



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**“Resistencia antibacteriana en cepas de E. Coli  
aisladas del proceso de beneficio bovino en Lima  
Metropolitana”**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario**

**AUTOR**

**César Augusto FLORES CALDAS**

**ASESOR**

**Daphne Doris RAMOS DELGADO**

**Lima, Perú**

**2017**



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Flores C. “Resistencia antibacteriana en cepas de E. Coli aisladas del proceso de beneficio bovino en Lima Metropolitana” [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.

---



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **miércoles 06 de setiembre de 2017**, a las **11:30 horas**, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 0168-EPMV/FMV-2017, integrado por los siguientes profesores:

MV. Mg. Miguel Angel Vilca López  
Dra. MV Daphne Ramos Delgado  
MV Siever Morales Cauti  
MV Olger Ramos Coaguila

Presidente del Jurado  
Asesor de la Tesis  
Miembro del Jurado  
Miembro del Jurado


Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **FLORES CALDAS, CÉSAR AUGUSTO**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

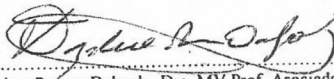
### “RESISTENCIA ANTIBACTERIANA EN CEPAS DE *E. coli* AISLADAS DEL PROCESO DE BENEFICIO BOVINO EN LIMA METROPOLITANA”

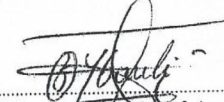
Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesora de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECIOCHO ( 18 )**.

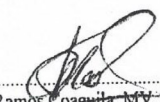
Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:40 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

  
Miguel Angel Vilca López, MV Mg. Prof. Principal, D.E.

  
Daphne Ramos Delgado, Dra. MV Prof. Asociada D.E.

  
Siever Morales Cauti, MV Prof. Asociado T.P.


  
Olger Ramos Coaguila, MV Asociado D.E.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
**Facultad de Medicina Veterinaria**  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 0148-EPMV/FMV-2017

PRESIDENTE :


  
MIGUEL ANGEL VILCA LÓPEZ

MIEMBROS :

  
DAPHNE RAMOS DELGADO

Asesor de la Tesis

  
SIEVER MORALES CAUTI

  
OLGER RAMOS COAGUILA

San Borja, 06 de setiembre de 2017

V° B°

.....  
Dr, Raúl Rosadio Alcántara  
Decano  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

## DEDICATORIA

*Esta tesis se lo dedico a:*

*A Dios, por estar presente  
iluminando este camino.*

*A mi abuela Auristela por  
creer mí apoyándome  
desde el inicio*

*A mis padres Teofila y  
José por su sacrificio y  
esfuerzo pordarme una  
carrera para mi futuro.*

*A mis hermanos Katia, Lissette y  
Jose Miguel*

*A mis sobrinos Renzo,  
Omar Melissa y  
Adriano.*

*A mis queridas mascotas Danna,  
Dago y Tasha*

## AGRADECIMIENTOS

*Mi eterno agradecimiento a mi directora de Tesis la Dra. Daphne Ramos por la confianza y su gran ayuda en cada momento de consulta y soporte en este trabajo de investigación*

*Al Dr. Siever Morales por estar involucrado en la guía durante el desarrollo de este proceso de tesis y sobre todo por su amistad*

*A la Dra. Norma Noé por su preocupación y generosidad siendo una persona con la cual siempre pude contar.*

*A ti Yanira, muchas gracias por estar presente en este largo camino motivándome y ayudándome siendo la compañera perfecta con tu amistad y amor.*

*A mis amigos, especialmente a Mary V. Mónica R., Luis S. y Claudia C. por apoyarme cada uno en diferentes etapas de la formulación, redacción, desarrollo y sustentación de esta tesis.*

*Al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y a todas las personas que fueron parte de este laboratorio durante el desarrollo de la tesis. Muchas gracias.*

# ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
INDICE.....	iv
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
LISTA DE CUADROS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE APÉNDICES.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. <i>Escherichia Coli</i> .....	2
2.1.1. Características.....	2
2.1.2. Morfología.....	2
2.1.3. Clasificación.....	3
2.1.4. Factores de virulencia.....	3
2.1.5. Patogenia de la infección.....	4
2.2. Antimicrobianos usados en el tratamiento de infecciones por <i>E. coli</i> .....	4
2.2.1. Beta lactámicos.....	4
2.2.2. Aminopenicilinas.....	5
2.2.3. Cefalosporinas.....	5
2.2.4. Quinolonas y Fluoroquinolonas.....	6
2.2.5. Tetraciclinas.....	7
2.2.6. Aminoglucósidos.....	7
2.2.7. Cloranfenicol y derivados.....	8
2.2.8. Sulfamidas.....	8
2.3. Resistencia antibacteriana.....	9
2.3.1. Definición.....	9
2.3.2. Tipos.....	9
2.3.3. Genética bacteriana.....	10
2.3.4. Recombinación genética.....	11
2.3.5. Mecanismos genéticos de transferencia de resistencias.....	12
2.3.6. Mecanismo bioquímico de resistencia bacteriana.....	13
2.3.7. Mecanismo de resistencia bacteriana a los antibióticos.....	14



2.4.	Técnicas de detección de resistencia bacteriana.....	19
2.4.1.	Prueba de difusión por disco (Método de Kirby – Bauer)....	19
2.4.2.	Métodos de dilución.....	19
2.4.3.	Prueba Épsilon (E-test) .....	19
2.5.	Importancia en salud pública.....	20
2.5.1.	Resistencia de <i>E. coli</i> a los antibióticos.....	20
2.5.2.	Causas para la emergencia de la resistencia antibiótica.....	20
2.5.3.	Situación actual de resistencia antibiótica en producción animal y uso de promotores de crecimiento.....	21
2.5.4.	Situación actual de resistencia antibiótica en salud pública	22
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.1.	Lugar y tiempo.....	24
3.2.	Descripción del material experimental.....	24
3.3.	Diseño experimental y observacional.....	25
3.3.1.	Obtención de la muestra.....	25
3.3.2.	Tamaño muestral.....	25
3.3.3.	Procesamiento de las muestras.....	25
IV.	RESULTADOS.....	29
V.	DISCUSIÓN.....	35
VI.	CONCLUSIONES.....	39
VII.	RECOMENDACIONES.....	40
VIII.	BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	41
IX.	ANEXOS.....	47

## RESUMEN

*Escherichia coli* es una bacteria común de la microbiota intestinal de bovinos, por lo tanto, es importante el conocimiento sobre la resistencia antibacteriana de estas cepas, debido a que pueden llegar a infectar al ser humano produciendo enfermedades transmitidas por alimentos de difícil tratamiento. El objetivo del presente trabajo fue determinar la resistencia antibacteriana de cepas de *E. coli* aisladas del proceso de beneficio bovino. Para esto se tomaron 259 viales conteniendo cepas de *E. coli* que fueron obtenidas durante el beneficio, heces de bovino, equipos y utensilios. La evaluación antibacteriana se realizó por el método de Kirby Bauer, para esta evaluación se consideraron 10 antibióticos de uso frecuente y algunos no autorizados para uso animal. Se encontró que el 93 % de las cepas fueron sensibles a sulfametoxazol - trimetropin, el 92% a cloranfenicol, el 76% a gentamicina, el 75% a ciprofloxacina, el 75% para amikacina y el 72 % a tetraciclina. La resistencia fue mayor para cefalexina 93%, y los intermedios fueron ácido nalidixico 44 %, ampicilina 39 %, y estreptomina 54%. El estudio evidenció la presencia de cepas de *E. coli* resistentes hasta a 8 antibióticos, lo que podría indicar un mal manejo de la terapia antibacteriana durante la crianza de estos bovinos.

**Palabras claves:** *E. coli*, antibacterianos, antibióticos, resistencia, bovinos

## ABSTRACT

*Escherichia coli* is the most common bacterial species of the intestinal flora of bovines. Infection of cattle by strains of *E. coli* is a frequent problem, therefore the knowledge about the antimicrobial resistance of these strains is important, since they can become infected to the human being producing diseases transmitted by foods of difficult treatment. The objective of the present investigation was to determine the antimicrobial resistance of strains of *E. coli* isolated from the process of bovine benefit destined for human consumption. For this, 259 vials containing strains of *E. coli* obtained from the benefit process, bovine faeces and utensils were taken. The antimicrobial evaluation was performed by the Kirby Bauer method, for this evaluation were considered 10 frequently used antibiotics and some not authorized for animal use. It was found that 93% of the strains were susceptible to sulfamethoxazole - trimetropin, 92% to chlorafenicol, 76% to gentamicin, 75% to ciprofloxacin, 75% to amikacin and 72% to tetracycline. Resistance was higher for cephalixin (93%), and intermediates were nalidixic acid (44%), ampicillin (39%), and streptomycin (54%). The study evidenced the presence of resistant strains of *E. coli* up to 8 antibiotics, which could indicate a mismanagement of the antimicrobial therapy during the breeding of these bovines.

**Key words:** *E. coli*, antimicrobials, antibiotics, resistance, bovines

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b>	Principales cefalosporinas y sus características farmacológicas relevantes (Sumano, 2006) .....	6
<b>Cuadro 2.</b>	Principales mecanismos de resistencia antibacteriana estudiados en <i>E. coli</i> .....	18
<b>Cuadro 3.</b>	Tamaño de halo en milímetros para interpretar los resultados del método de difusión en agar (CLSI 2015) .....	26
<b>Cuadro 4.</b>	Distribución porcentual de cepas <i>E. coli</i> aisladas en un camal (n=259)	29
<b>Cuadro 5.</b>	Distribución de muestras de cepas de <i>E. Coli</i> según el número de antibióticos al cual presentaron resistencia (n = 259) .....	34

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Distribución porcentual de la resistencia de cepas <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos aislados de carcasa durante el proceso de beneficio bovino en un camal (n=154) .....	30
<b>Figura 2.</b>	Distribución porcentual de la resistencia de cepas. <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la evaluación de utensilios durante el proceso de beneficio bovino en un camal (n=35) .....	30
<b>Figura 3.</b>	Distribución porcentual de la resistencia de cepas <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la evaluación de heces durante el procesos de beneficio bovino en un camal (n=70) .....	31
<b>Figura 4.</b>	Distribución porcentual de la resistencia de cepas <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en el Centro de beneficio bovino (n= 259) .....	31
<b>Figura 5.</b>	Distribución porcentual de la resistencia antibiótica total (resistentes e intermedios) de cepas de <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la evaluación de la carcasa durante el proceso de beneficio bovino en un camal (n= 154). .....	32
<b>Figura 6.</b>	Distribución porcentual de la resistencia antibiótica total (resistentes e intermedios) de cepas de <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la evaluación del centro de beneficio bovino (n= 154).....	33
<b>Figura 7.</b>	Distribución porcentual del comportamiento de la resistencia de cepas bacterianas de <i>E. coli</i> en el centro de beneficio bovino frente a 10 antibióticos evaluados. (=259) .....	33

## LISTA DE APÉNDICES

<b>Anexo 1.</b>	Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la fase de evisceración durante el proceso de beneficio bovino (n= 49) .....	47
<b>Anexo 2.</b>	Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la fase de desolle durante el proceso de beneficio bovino (n= 36) .....	47
<b>Anexo 3.</b>	Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la fase de oreo inicial durante el proceso de beneficio bovino (n= 38) .....	48
<b>Anexo 4.</b>	Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de <i>E. coli</i> frente a 10 antibióticos en la fase de oreo final del proceso de beneficio bovino (n= 31) .....	49

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones ocasionadas por *Escherichia coli* se pueden producir por el consumo de agua o alimentos contaminados con heces de animales portadores de la bacteria. A nivel mundial se han registrado varios brotes de enfermedades producidos por esta bacteria los cuales han sido asociados al consumo de carne bovina; lo que sugiere que este ganado es una importante fuente de contaminación que provoca infecciones en humanos (Rodríguez 2002).

Para el control de enfermedades infecciosas la principal herramienta son los antimicrobianos. Estos fármacos se vienen usando por más de 50 años y son los responsables de las mejoras en los pronósticos de las infecciones (Marin y Gudiol, 2003).

En los últimos años el mal uso de estos antibacterianos ha generado el desarrollo de microorganismos resistentes. Esta resistencia es el resultado de la transmisión de elementos genéticos de resistencia (cromosomas, plásmidos, cassettes de genes, integrones y transposones) (Nijsten *et al.*, 1996; Varga *et al.*, 2008); lo cual ha determinado que los animales de producción se conviertan en reservorios para la diseminación de microorganismos por la contaminación de carcasas. Asimismo, el contacto directo de personas con los animales también podría generar esta diseminación (Torres y Zarazaga, 2002).

Existe una diversidad de microorganismos resistentes a antibióticos, entre los cuales se encuentra *E. coli*. Ésta bacteria gramnegativa tiene la capacidad de transmitir genes de resistencia debido a sus características fisiológicas (respiración facultativa, fermentación de azúcares simples y utilización de nitrógeno soluble) (Souza *et al.*, 2001); además, de tener una amplia ubicación en la naturaleza (Souza *et al.*, 2001). Estas características la convierten en uno de los principales patógenos en infecciones intra y extra hospitalarias.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. *Escherichia Coli***

#### **2.2.1. Características**

*Escherichia coli* se describió por primera vez en 1985 por el pediatra alemán Theodore Von Escherich. Fue denominada inicialmente como “*Bacterium coli commune*” pero en 1919 fue renombrada *E. coli* en honor a su descubridor (Kaper, 2005). Es uno de los microorganismos más estudiados y forma parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal (TGI) del ser humano y los animales (Agurto, 2009).

#### **2.1.2. Morfología**

*E. coli* presenta distintas características morfológicas y reacciones bioquímicas específicas. Es un bacilo cilíndrico gram negativo, oxidasa negativa con un tamaño promedio de 1.1 a 1.5 de ancho y 2.0 a 6.0  $\mu\text{m}$  de largo. De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos (Scheutz y Strockbine, 2005).

La cubierta celular de las enterobacterias gram-negativas, es del tipo didermo y está constituida por membrana citoplasmática externa, formada por una capa de fosfolípidos con proteínas intercaladas, sobre ésta se sitúa una capa fina de peptidoglicano y entre ambas se encuentra el espacio o gel periplásmico, por encima se sitúa la membrana externa constituida por una bicapa de fosfolípidos intercalada con distintos componentes como el lipopolisacárido (LPS), lipoproteínas y porinas. Además, en el caso específico de las enterobacterias, aparecen



componentes como flagelos, fimbrias o pili y las adhesinas no fimbrias (Mandell, Bennett *et al.*, 2005).

La estructura antigénica está formada por tres clases de antígenos: Antígenos somáticos o antígenos O son cadenas de polisacárido procedente del LPS capsular que están presentes en todas las bacterias gram negativas; es el que le confiere especificidad serológica. Antígenos flagelares o antígenos H son proteínas que se localizan en los flagelos y finalmente los antígenos capsulares o antígenos K presentes en cepas con cápsula, constituyen una barrera defensiva disminuyendo la capacidad de los anticuerpos para unirse a la bacteria, son un factor de virulencia fundamental porque impide la fagocitosis (Murray *et al.*, 2006).

### 2.1.3. Clasificación

Desde el punto de vista taxonómico su clasificación es la siguiente:

<b>Phylum</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	Enterobacteriales
<b>Familia</b>	Enterobacteriaceae
<b>Género</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Especie</b>	<i>Escherichia coli</i> (Scheutz, 2005).

### 2.1.4. Factores de virulencia

Los factores de virulencia son todas las estructuras o productos bacterianos que intervienen en el proceso infeccioso. En las enterobacterias estos factores de virulencia producen los diferentes síndromes clínicos. Las fimbrias y adhesinas se van a adherir a las mucosas, siendo éste el primer paso para la colonización bacteriana. Por otra parte, producen toxinas como la endotoxina o lipopolisacárido de la pared y otras endotoxinas como la hemolisina, las citotoxinas y además poseen plásmidos los cuales son unidades de ADN extracromosómicos e intracitoplasmáticos con capacidad de autorreplicación, que juegan un papel fundamental en la codificación de información para su acción patógena; se les conoce como islas de patogenicidad; así como para la resistencia a los antibióticos (Mandell y Bennett *et al.* 2005).

Existen dos tipos de factores, los generales y los específicos. Los factores de virulencia generales pertenecen a toda la familia Enterobacteriaceae y los factores específicos son propios de cada cepa de *E. coli* (Murray *et al.*, 2006). Los factores específicos, propios de cepas patógenas

de *E. coli*, incluyen a los polisacáridos de la cápsula, estos evitan la fagocitosis e interfieren con el sistema del complemento; las adhesinas, permiten la fijación de la bacteria al intestino delgado y al tracto urinario.

### **2.1.5. Patogenia de la infección**

*E. coli* por sus características fisiológicas, es una bacteria con una capacidad alta de adquirir resistencia a antimicrobianos. Es un microorganismo que posee una amplia diversidad de hábitats (Souza *et al.*, 2001). La transmisión y adquisición de genes permiten el desarrollo de una mayor resistencia a diferentes antimicrobianos. De esta manera, *E. coli* puede convertirse en un importante patógeno intra y extra hospitalario en infecciones de tipo multi-drogo resistente (MDR), (García *et al.*, 2010).

Se distinguen grandes grupos de *E. coli* patógenas según el tipo de infección que provocan. Un primer grupo está constituido por las cepas de *E. coli* responsables de infecciones extra intestinales tales como: Infecciones del aparato urinario, generalmente causadas por cepas que producen adhesinas permitiendo la colonización del tracto urinario superior y su no eliminación a través de la orina. Los casos de meningitis neonatal, son causados generalmente por cepas que tienen el antígeno capsular K1 y que se encuentran colonizando normalmente el tracto digestivo de mujeres embarazadas y recién nacidos. La septicemia, proviene generalmente de infecciones del tracto urinario o digestivo y genera una alta mortalidad en pacientes inmunocomprometidos, con infecciones de abdomen o sistema nervioso central (Murray *et al.* 2006).

## **2.2. Antimicrobianos usados en el tratamiento de infecciones por *E. coli***

### **2.2.1. Beta lactámicos**

Los beta lactámicos ( $\beta$  lactámicos), son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo  $\beta$  lactámico, éstos actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, su utilidad y popularidad se deben a su escasa toxicidad, alta eficacia, bajo costo y disponibilidad (Sumano, 2006).

### 2.2.2. Aminopenicilinas

Las aminopenicilinas se han convertido con los años en fármacos de uso popular en Medicina Veterinaria debido a su mayor espectro de actividad, que incluye gérmenes gram positivos y gram negativos. En este grupo de fármacos se incluye la amoxicilina, la ampicilina y los ésteres profármaco de hetacilina, pivampicilina, bacampicilina y talampicilina. Las aminopenicilinas pueden atravesar la capa externa de las bacterias gram negativas mejor que la bencilpenicilina. Por ello, su espectro no sólo incluye a gram positivos, como estreptococos, estafilococos, bacilos y clostridios, sino que también es eficaz frente a gram negativos como *E. coli*, y algunas especies del género *Salmonella* (Botana, 2002).

La combinación amoxicilina más ácido clavulánico tiene un espectro de acción que se asemeja a una cefalosporina de segunda generación, dado que protege a la amoxicilina frente a la acción de bacterias gram negativas como *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *E. Coli* y *Staphylococcus sp*, productoras habituales de  $\beta$ -lactamasas (Botana, 2002).

### 2.2.3. Cefalosporinas

Las cefalosporinas son un grupo de antibióticos cuyo espectro fluctúa desde muy específico contra bacterias gram positivas, hasta amplio espectro con marcada actividad contra gram negativas; por ello se les utiliza para el tratamiento de una gran variedad de infecciones (Sumano, 2006). El espectro de actividad varía según la generación a la que pertenezcan; pero, en general, muestran actividad bacteriana frente a estafilococos productores de  $\beta$ -lactamasa y frente a bacterias gram negativas, como las enterobacterias (Botana, 2002).

Las cefalosporinas se clasifican en 4 generaciones, según su tiempo de aparición y su espectro de actividad antibacteriana el cual puede ser observado en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Principales cefalosporinas y sus características farmacológicas relevantes (Sumano, 2006)

Nombre y vía de administración	Espectro
<b>PRIMERA GENERACIÓN</b>	
Cefalotina y cefazolina (IM e IV)	Sobre todo contra gram positivos y con poca actividad contra gram negativos. Por vía parenteral son muy activas contra <i>Streptococcus bovis</i> y $\beta$ -hemolítico, <i>Staphylococcus intermedius</i> y <i>S. aureus</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Haemophilus equigenitalis</i> y algunas cepas de <i>E.coli</i> , <i>Klebsiella sp.</i> , <i>Actinobacillus sp.</i> y <i>Pasteurella sp</i>
Cefapirina (IM, IV e intramamaria)	Activas contra la mayoría de los anaerobios, a excepción de <i>Bacteroides fragilis</i> .
Cefacetrillo y cefaloridina (parenteral)	<i>Corynebacterium sp.</i> Es sensible, pero <i>Rhodococcus equi</i> es resistente (para éste, la mejor opción es la eritromicina).
Cefadrina, cefalexina y cefadroxilo (sólo VO)	Son resistentes a <i>Enterococcus Faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , algunos estafilococos, <i>Proteus sp.</i> indolpositivos, <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Serratia sp.</i> y <i>Citrobacter sp.</i>
<b>SEGUNDA GENERACIÓN</b>	
Cefamandol, cefonocida y ceforanida (IM e IV)	Eficaces contra gram positivos y gram negativos y tienen actividad contra <i>Bacteroides fragilis</i> .
Cefuroxima (IM, IV y VO)	Su acción contra gram negativos es muy variable, y se deben a prescribir con base en el resultado de los antibiogramas.
Cefoxitina, cefmetazol y cefotetán (del grupo de las cefamicinas; en sentido estricto no se consideran cefalosporinas)	De esta generación, en Medicina Veterinaria sólo se han encontrado algunos usos para la cefoxitina.
<b>TERCERA GENERACIÓN</b>	
Cefotaxima, ceftriaxona, latamoxef, cefoperazona, cefsulodium, ceftazidima (vía parenteral), cefetamet, cefxima (VO)	Son cefalosporinas de gran potencia. Tienen actividad contra gram positivos y son muy potentes contra gram negativos, incluyendo <i>Salmonella sp.</i> y <i>Proteus sp.</i> Sólo ceftazidima y cefoperazona son activas contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Las de tercera generación se usan en clínica veterinaria por su baja toxicidad y su buen efecto terapéutico contra gram positivos y gram negativos.
Ceftiofur (IM)	Gran actividad contra gram negativos, <i>Streptococcus sp.</i> , cepas productoras de $\beta$ -lactamasas y anaerobios como <i>Fusobacterium necrophorum</i> y <i>Bacteroides melanogenicus</i> ; menor actividad que otras cefalosporinas de tercera generación contra <i>Pseudomonas sp.</i>
<b>CUARTA GENERACIÓN</b>	
Cefepima, cefquinoma y ceftiofur (parenteral)	Son resistentes a cefalosporinas de tercera generación las $\beta$ -lactamasas estafilocócicas, enterobacterianas y pseudomonales.

#### 2.2.4. Quinolonas y Fluoroquinolonas

Las quinolonas y fluoroquinolonas son el grupo de fármacos sintéticos de más desarrollo en la actualidad. El sitio de acción de todas las quinolonas y fluoroquinolonas es la girasa de DNA o topoisomerasa II, una enzima esencial para la duplicación del material genético bacteriano (Plumb, 2006).

Las primeras quinolonas (ácido nalidíxico y oxolónico) son compuestos de pequeño espectro, activas solo frente a enterobacterias gram negativas. En comparación, el espectro de

todas las fluoroquinolonas (ciprofloxacino, enrofloxacino, etc.) es considerablemente más amplio e incluye bacterias aerobias gram negativas y algunos microorganismos gram positivos, aunque tienen capacidad limitada frente a *Streptococcus* y *Enterococcus* (Botana, 2002). Las fluoroquinolonas son en su mayoría hasta cuatro veces más potentes como bactericidas a la misma concentración considerada como mínima inhibitoria, lo que las hace especialmente atractivas para el uso clínico (Sumano, 2006).

#### **2.2.5. Tetraciclinas**

Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos y uno de los grupos clásicos de antibióticos de amplio espectro, siendo efectivas contra bacterias gram negativas, tanto aerobias como anaerobias, así como gram positivas e incluso contra algunos protozoos. Como en muchos otros casos, el incremento de las resistencias en los patógenos más comunes, agravado por la utilización de estos antibióticos como promotores de crecimiento, ha limitado su uso terapéutico en los últimos años. Actualmente suelen utilizarse de primera elección preferentemente en rumiantes y ganado porcino (Botana, 2002).

Las bacterias más sensibles son *Streptococcus* sp., *Clostridium* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Brucella* sp., *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus pertusis*, neumococos y gonococos. Las bacterias moderadamente sensibles son *Corynebacterium* sp., *E. coli*, *Pasteurella* sp., *Salmonella* sp., *Bacillus anthracis* y meningococos (Plumb, 2006).

Actualmente se conocen al menos 12 mecanismos distintos de resistencia, muchos de ellos están codificados por genes localizados en plásmidos y transposones, lo que facilita su diseminación. En Medicina Veterinaria las tetraciclinas de mayor uso son la oxitetraciclina y la doxiciclina (Sumano, 2006).

#### **2.2.6. Aminoglucósidos**

Los aminoglucósidos se utilizan principalmente en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos aeróbicos gram negativos y pueden tener actividad contra algunos gram positivos, como *Staphylococcus aureus*, algunas especies de micobacterias, micoplasmas y espiroquetas. Su uso se limita al tratamiento de infecciones causadas por gram negativos resistentes a otros fármacos menos tóxicos y con periodos de retiro más cortos. (Sumano, 2006).

La restricción en el uso de estos fármacos se da por: la toxicidad de la mayoría de antibióticos miembros de este grupo, la importancia creciente de las resistencias microbianas, la

producción de residuos que permanecen largo tiempo en los tejidos. Entre los m usados con mayor frecuencia tenemos gentamicina, amikacina y estreptomicina. (Botana, 2006).

#### **2.2.7. Cloranfenicol y derivados**

Este grupo de antibióticos actúa sobre las células uniéndose de forma reversible a la subunidad 50S del ribosoma, inhibiendo de forma específica la actividad de la enzima peptidiltransferasa, e impidiendo por tanto el proceso de elongación de la cadena polipeptídica. Puesto que la inhibición de esta enzima es reversible, el cloranfenicol y sus derivados actúan como bacteriostáticos (Botana, 2002).

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro, cuyo empleo en medicina veterinaria debe ser cuidadoso, ya que muchas bacterias patógenas han desarrollado resistencia, con excepción de las Rickettsias. La resistencia de las bacterias gram negativas se debe a la presencia de la enzima acetiltransferasa (factor de resistencia) adquirida por conjugación (plásmido). En el año de 1990 fue prohibido el uso del cloranfenicol en animales de abasto debido a que con tan solo 1 ppm se podía producir anemia aplásica en el ser humano, que en muchos casos puede llegar a ser mortal. Por ello es obligatorio que todo Médico Veterinario el cuidar que no se utilice cloranfenicol y que no se tolere su uso para animales destinados al consumo humano (Sumano, 2006).

#### **2.2.8. Sulfamidas**

Las sulfamidas son fármacos antimicrobianos de amplio espectro, alteran la síntesis de proteínas y los mecanismos de replicación microbiana. Por si solas ejercen una acción bacteriostática, pero en combinación con trimetropina (sulfametropin) u otras diaminopirimidas pueden ejercer una acción bactericida (Plumb, 2006).

En estos antibacterianos se ha desarrollado el fenómeno de la resistencia, debido a que las sulfonamidas tienen más de 50 años de uso, y las bacterias han adquirido mecanismos que les permiten sobrevivir en su presencia. Por lo general, presentan mutaciones en los cromosomas que hacen que la sulfonamida no actúe eficazmente o tenga poca penetración, o bien que la propia bacteria experimente producción de enzimas dihidropteroato sintasa insensibles o hiperproducción de ácido para- amino benzoico (PABA). La resistencia mediada por plásmidos es muy común, y existe resistencia cruzada entre sulfonamidas (Botana, 2002)

## **2.3. Resistencia antibacteriana**

### **2.3.1. Definición**

La resistencia antibacteriana se define como una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida de una bacteria de permanecer resistente a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico. En la actualidad constituye un problema en salud pública que involucra a todos los países alrededor del mundo (Daza, 2004).

### **2.3.2. Tipos**

#### **a. Natural o intrínseca**

Es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos. En el caso de la resistencia natural todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico (Guerra, 2000).

La resistencia intrínseca se refiere a las propiedades innatas de las bacterias. Por ejemplo, las bacterias podrían ser resistentes a algunos antimicrobianos debido a la pared celular, que proporciona a las bacterias una permeabilidad no selectiva. En tales casos, sólo las moléculas pequeñas pueden pasar, y las moléculas grandes tales como antimicrobianos no pueden. Por ello las bacterias gram positivas son más susceptibles a los antimicrobianos debido a que carecen de la membrana celular compuesta de lipopolisacáridos y proteínas (Quinn, 2002).

#### **b. Adquirida**

La resistencia adquirida en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases del cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En el primer caso, la resistencia se transmite de forma vertical de generación en generación. En el segundo, la transferencia de genes se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético movable como intrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas (Guerra, 2000). De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos (Guerra, 2000).

### 2.3.3. Genética bacteriana

#### a. Mutación

Es un cambio heredable en la secuencia de bases de los ácidos nucleicos que constituyen el genoma de un organismo; ésta se produce en condiciones naturales con baja frecuencia y se deben fundamentalmente a errores en los procesos de replicación del ADN. Las mutaciones en las bacterias, frecuentemente afectan propiedades fácilmente reconocibles como requerimientos nutricionales, morfología o resistencia antibacteriana. (Lewin, 2000).

- **Mutación selectiva.** Confiere a la célula mutante una ventaja frente a la cepa que le dio origen, bajo ciertas condiciones ambientales, de manera que la progenie de dicha célula es capaz de superar el crecimiento de la cepa original y sustituirla. Este es el caso de las mutaciones que confieren resistencia antibacteriana, en las que el mutante resistente se seleccionará de un ambiente en el que las bacterias estén expuestas al antibiótico en cuestión (Guerra, 2000).
- **Mutación no selectiva.** La bacteria no adquiere beneficios en relación a su progenitor, por ejemplo, la pérdida de pigmento de las colonias de *Serratia marcescens* que se observa cuando se cultivan en agar (Lewin, 2000).
- **Mutaciones puntuales.** Son aquellas que implican un cambio en una única base; pueden provocar que se cambie un aminoácido por otro en el producto proteico (mutación por cambio de sentido). Otras veces no se traducen en ningún cambio (mutación silenciosa), dado que como sabemos existe más de un codón para cada aminoácido. También puede suceder que el codón se convierta en una señal de terminación (mutación sin sentido) y en ese caso se traducirá una proteína incompleta no funcional. Las deleciones y las inserciones producen cambios más notorios en el ADN, provocando la pérdida o la incorporación de cualquier número de pares de bases. Por lo tanto, siempre que éste no sea múltiplo de tres se producirán mutaciones por desplazamiento del marco de lectura, que suele provocar la pérdida total del fenotipo (Betancor et al., 2009).
- **Mutaciones supresoras.** Diferentes mutaciones que originan un producto proteico defectuoso, pueden ser suprimidas por un segundo evento de mutación en otro sitio del genoma, restaurándose el fenotipo original. (Lewin 2000)



### **2.3.4 Recombinación genética**

Proceso mediante el cual los elementos genéticos contenidos en el genoma de diferentes individuos se combinan, permitiendo que el individuo origine alguna nueva función que pueda dar como resultado una adaptación a los cambios en el medio ambiente. Este es un evento evolutivo importante y las células tienen mecanismos específicos que aseguran que dicha recombinación se efectúe. Estos mecanismos son llamados transformación, transducción y conjugación (Murray, 2003).

#### **a. Transformación**

Proceso por el cual ciertas bacterias (llamadas competentes), son capaces de incorporar ADN exógeno proveniente de otras bacterias libres en el medio. La capacidad de captar el ADN exógeno, conservarlo en forma estable e interactuar con él, se denomina competencia (Lewin, 2000).

#### **b. Transducción**

Es la transferencia de ADN de una bacteria a otra por intermedio de un bacteriófago. Existen dos formas de transducción la especializada y la generalizada. La primera ocurre cuando un fago temperado porta genes bacterianos adquiridos durante un ciclo infeccioso anterior y al infectar una nueva bacteria e integrar su genoma al cromosoma bacteriano, incorporará a éste la información genética correspondiente a la bacteria infectada previamente. La transducción generalizada se produce por partículas virales defectuosas que se originan como cápsides vacías durante la replicación viral y que luego incorporan ADN de una bacteria; así, al infectar una nueva bacteria podrá introducir en ella dicho material genético. (Betancor et al., 2009).

#### **c. Conjugación**

Se basa en el intercambio unidireccional de información genética desde una bacteria donante a otra receptora mediante un contacto real. La capacidad de conjugación depende de la presencia en la bacteria de plásmidos conjugativos que contienen los genes necesarios para tal proceso. Un ejemplo muy conocido de plásmido conjugativo es el plásmido F de *E. coli* que codifica las proteínas necesarias para la conjugación, incluyendo el pili sexual. Debemos recordar que este es un mecanismo muy efectivo para la transferencia de genes de resistencia antibiótica (Lewin 2000).

### **2.3.5. Mecanismos genéticos de transferencia de resistencias**

#### **a. Plásmidos**

Los plásmidos son porciones circulares de ADN extracromosómico que pueden transferirse de una bacteria a otra, saltando en ocasiones los límites entre especies distintas, y llegando incluso a transferir información entre bacterias pertenecientes a géneros diferentes. Los plásmidos pueden clasificarse en dos tipos principales: conjugativos y no conjugativos. Los plásmidos conjugativos son autorreplicables de una célula a otra y tienen una región dedicada a la conjugación y la síntesis del pili sexual. Los plásmidos no conjugativos son incapaces de iniciar la autotransferencia y no codifican para el pili sexual. Su transferencia está mediada por plásmidos conjugativos corresponsantes por el proceso de movilización (Blanco *et al.*, 2002).

Los plásmidos que están asociados con la transferencia de marcadores de resistencia a las drogas se conocen como plásmidos R o factores R. La transmisión de plásmidos se efectúa fundamentalmente por conjugación, mecanismo de transferencia de ADN que precisa el contacto directo de las bacterias, donante y receptora, a través de los pilis, y por transducción, mecanismo de transferencia de ADN mediado por fagos específicos de las bacterias (Blanco *et al.*, 2002).

#### **b. Transposones**

Son cadenas cortas de ADN que saltan de cromosoma a plásmido, en uno u otro sentido, entre plásmidos o entre plásmidos y bacteriófagos. La característica más saliente de este tipo de material es la de integrarse con facilidad a cadenas de ADN diferente del original. A diferencia de los plásmidos, los genes saltarines no son autorreplicantes, deben mantenerse dentro de una estructura autorreplicante para replicarse. Un rasgo central y peligroso de los transposones es la posibilidad de que varios de ellos, codificando resistencias a múltiples drogas, estén incluidos dentro de un mismo plásmido, lo que permite, por transferencia de este último, la adquisición de multirresistencia por parte de la bacteria receptora (Carlioni *et al.*, 2011).

#### **c. Integrones y casetes genéticos**

Son diferentes de los transposones, pero de mecanismos algo parecidos. Se recombinan en un sitio específico y codifican resistencia a un solo antibiótico. Junto con los transposones, son los sistemas que más actúan en la adquisición de resistencias por parte de los plásmidos. Constan de tres regiones, dos invariables y una central variable, que es la que porta el cassette. El

denominado cassette es un elemento que incluye un gen y un sitio recombinante. Se han identificado más de cuarenta cassetes y la mayoría porta genes de resistencia (Casal *et al.*, 2007).

### **2.3.6. Mecanismo bioquímico de resistencia bacteriana**

La resistencia bacteriana se puede abordar desde el punto de vista molecular y bioquímico de tal forma que se pueden clasificar en tres mecanismos básicos, por medio de los cuales las cepas bacterianas pueden adquirir resistencia a los antibióticos de acuerdo al mecanismo expresado y el mecanismo de acción del antibiótico. Los mecanismos de resistencia son: inactivación enzimática del antibiótico, alteración del sitio blanco del antibiótico y alteración de barreras de permeabilidad. Cabe resaltar que los tres mecanismos pueden ocurrir simultáneamente. (Carloni *et al.*, 2011).

#### **a. Inactivación enzimática del antibiótico**

La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las  $\beta$ -lactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas. En los gram positivos suelen ser plasmídicas, inducibles y extracelulares y en las gram negativas de origen plasmídico o por transposones, constitutivas y periplásmicas. Otra enzima es la eritromicina esterasa que cataliza la hidrólisis del anillo de lactona del antibiótico. Entre las enzimas que se encargan de la modificación de la estructura podemos mencionar al cloranfenicol acetiltransferasa y también a las enzimas que modifican a los aminoglucósidos, lincosamidas y estreptograminas (acetilasas, adenilasas y fosfatasas) (Pérez *et al.*, 2013).

#### **b. Alteraciones en el sitio blanco del antibiótico**

La resistencia bacteriana conferida por la alteración del sitio en donde actúa el antibiótico consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50s o 30s ribosomales, entre otras. Por ejemplo, la modificación por mutación de los genes GyrA y GyrB que codifican para las topoisomerasas II y IV respectivamente, ofrecen resistencia bacteriana a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli* frente a las quinolonas.

En cuanto a las modificaciones a nivel ribosomal podemos mencionar los cambios que ocurren en las subunidades 30s y 50s los cuales son los sitios de acción de aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas y lincosamidas. Por ejemplo, la metilación del RNA ribosomal de la

subunidad 50s confiere resistencia a *S. aureus* y *S. epidermidis* frente a tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. La resistencia bacteriana contra gentamicina, tobramicina y amikacina consiste en una mutación de la subunidad ribosomal 30s (Pérez *et al.*, 2013).

### **c. Alteraciones en la barrera de permeabilidad**

Este mecanismo se debe a los cambios que se dan en los receptores bacterianos específicos para los antimicrobianos o por alteraciones estructurales en los componentes de envoltura de la célula bacteriana (membrana o pared celular) que influyen en la permeabilidad, así como a la pérdida de la capacidad de transporte activo a través de la membrana celular o la expresión de bombas de eflujo las cuales se activan en el momento en que el antibiótico se introduce a la célula bacteriana (Pérez *et al.*, 2013).

La membrana celular de las bacterias gram negativas contiene un alto contenido de lípidos con respecto a las gram positivas, presenta una membrana externa con un 40% de lipopolisacáridos lo cuál le proporciona una barrera efectiva contra la entrada de antibióticos, dependiendo de la composición química de estos. La internalización de compuestos hidrófilos se lleva a cabo por canales denominados porinas, que se encuentran en la membrana interna, estos canales están llenos de agua por lo que la penetración de los antibacterianos en este caso dependerá del tamaño de la molécula, hidrofobicidad y carga eléctrica (Giedraitiene *et al.*, 2011).

En la membrana celular se encuentran las llamadas bombas de eflujo que llevan a cabo la internalización y expulsión de los antimicrobianos. Una amplia variedad de bombas de eflujo provee resistencia antimicrobiana tanto en bacterias gram positivas como en gram negativas. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas transmembrana. En el caso de las bacterias gram negativas involucra también componentes en la membrana externa y citoplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entra. Este mecanismo confiere resistencia a tetraciclinas, quinolonas, cloranfenicol, beta lactámicos (Carlet *et al.*, 2013).

## **2.3.7. Mecanismo de resistencia bacteriana a los antibióticos**

### **a. Resistencia a Aminoglucosidos**

Estos antimicrobianos bactericidas actúan sobre la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos interfiriendo con la síntesis de proteínas Su actividad antimicrobiana está orientada a bacilos gram negativos aerobios. Combinado con betalactámicos tiene efecto contra cocos gram

positivos (Blanco *et al.*, 2002). A pesar de que su nivel de resistencia es bajo (< 10 %), existen gérmenes patógenos capaces de resistir a su actividad antimicrobiana (Daza, 2004).

La resistencia a los aminoglucósidos se produce por modificación enzimática, debido a la acción de enzimas que modifican y a la vez detoxifican la molécula de antibiótico (Blanco *et al.*, 2002). Una gran variedad de genes que codifican la resistencia a los aminoglucósidos por las acetiltransferasas, las nucleotidiltransferasas y las fosfotransferasas han sido descritos en los estafilococos (Malik *et al.*, 2005). El efecto de las enzimas depende de su afinidad por el aminoglucósido en cuestión (Daza, 2004).

Otros mecanismos como alteraciones en el transporte del antibacteriano al interior de la célula, defectos en la permeabilidad de la pared o en ocasiones por falta de producción de proteínas en la membrana externa, como ocurren naturalmente con bacterias anaeróbicas y por últimos, alteraciones en el sitio blanco, en este caso en los ribosomas, como acontecen en cepas de *Enterococcus sp.* (Daza, 2004).

## **b. Resistencia a $\beta$ - lactámicos**

Estos antibióticos actúan normalmente uniéndose a las proteínas fijadoras de penicilinas (PFP), interfiriendo las reacciones de transpeptidación implicadas en las fases finales de la síntesis del peptidoglicano y, consecuentemente, impidiendo que se complete la formación de la pared celular en las bacterias en crecimiento, así como su reorganización durante los procesos de división bacteriana (Blanco *et al.*, 2002).

### **• Resistencia a penicilinas**

La resistencia es debida a la producción de  $\beta$ -lactamasas que hidrolizan la unión  $\beta$  - lactámica, alteración de las proteínas fijadoras de penicilinas (PFP), sitio blanco de la acción del antibacteriano, o por alteración de la permeabilidad de la pared que evita la penetración del mismo (Daza, 2004).

Las  $\beta$  - lactamasas cromosómicas son enzimas codificadas por genes estructurales del cromosoma bacteriano, características de género y especie. Pueden producirse por inducción, en cuyo caso el incremento de producción se sigue dando mientras persista el inductor, que suele ser el mismo antibiótico que sirve de sustrato; o por depresión estable, situación en la cual los niveles aumentados de enzima se mantienen, incluso en ausencia del inductor, como consecuencia de una mutación espontánea (Blanco *et al.*, 2002).

- **Resistencia a cefalosporinas**

En este grupo la resistencia se debe a la acción lipopolisacáridos y proteínas de la pared celular; que dificultan la penetración a la bacteria. Una menor afinidad por el antibacteriano, la producción de  $\beta$  - lactamasas y por último, la unión de la molécula de cefalosporina con la  $\beta$  - lactamasa excretada, lo que previene la unión del antibacteriano con las proteínas fijadoras de penicilina. Sin embargo, la mayor parte de las cefalosporinas son bastante resistentes a la acción enzimática de  $\beta$  - lactamasas segregadas por *Staphylococcus aureus*; mientras que son más fácilmente inactivadas en el espacio periplásmico de las bacterias gram negativas antes de alcanzar su blanco en la membrana interna de la pared celular (Daza, 2004). La excepción son algunas cefalosporinas de segunda y tercera generación que son resistentes a las  $\beta$  - lactamasas de las bacterias gram negativas, aunque hay también especies resistentes a las de tercera generación como *Citrobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp.*, y *Serratia sp.* (Daza, 2004).

### **c. Resistencia a quinolonas**

Las quinolonas son antibióticos con un amplio espectro de actividad contra bacterias gram positivas y gram negativas. Este antibiótico inhibe la ADN girasa o topoisomerasa II, que es una enzima responsable del desenrollamiento del ADN durante su replicación. El espectro de acción de las quinolonas es similar en todos los miembros de una misma generación y se va ampliando según avancen las generaciones. (Blanco *et al.*, 2002).

Se conocen 4 mecanismos de resistencia a las quinolonas. El primer mecanismo es la mutación cromosómica de la ADN-girasa observada en *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium jejuni*. El segundo mecanismo se basa en las alteraciones que se producen en el mecanismo de penetración de la membrana externa visto en bacilos gram negativos como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. En el tercer mecanismo se produce alteraciones energéticas en la membrana citoplásmica que generan dificultades en la incorporación de la droga a la bacteria como en el caso de *Escherichia coli*. Finalmente, el cuarto mecanismo produce un incremento de la bomba de salida del antibiótico produciendo la expulsión de la droga fuera de la bacteria en el menor tiempo posible, mecanismo observado principalmente en *Staphylococcus aureus* (Daza, 2004).

Las Fluoroquinolonas, como la enrofloxacin, ciprofloxacino, marbofloxacino y últimamente la gatifloxacino, han sido eficaces contra especies de *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.* y *Proteus sp.*, debido a una mejora en la unión a la DNA-girasa, que aumenta la penetración celular hasta en 70 veces con respecto a las demás quinolonas (Daza, 2004).

#### **d. Resistencia a tetraciclinas**

Las tetraciclinas son antimicrobianos bacteriostáticos que actúan inhibiendo la síntesis proteica en la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos. Las tetraciclinas tienen un amplio espectro que incluyen bacilos gram positivos y gram negativos aerobios y anaerobios (Blanco *et al.*, 2002). La adquisición de resistencia a la tetraciclina se produce de forma lenta, progresiva y en múltiples escalones. Puede ser cruzada, aunque doxiciclina y minociclina pueden seguir siendo activos, por el grado de lipofilia que le permite una mejor penetración sin requerir el transporte activo (Escolar *et al.*, 1998). El mecanismo responsable es el sistema de bomba de salida, que produce la disminución en la capacidad de penetrar al interior de la bacteria (Daza, 2004). Estos mecanismos de resistencia son transferibles por plásmidos e inducibles. Ocasionalmente las bacterias pueden producir también enzimas inactivadoras (Escolar *et al.*, 1998).

#### **e. Resistencia a sulfonamidas y trimetopim**

El mecanismo de acción de las sulfamidas está relacionado a su similitud estructural con el ácido-para-aminobenzoico (PABA), componente del ácido fólico, impidiendo su utilización normal por parte de la bacteria, mientras que el trimetoprim es un análogo estructural de la pteridina, componente de la molécula del ácido fólico, que actúa evitando la reducción del dihidrofolato en tetrahidrofolato (Blanco *et al.*, 2002).

Se cree que la resistencia a la sulfamida emana de la sobreproducción de ácido-para-aminobenzoico probablemente debido a una mutación del ADN cromosomal, y la resistencia al trimetoprim debida a la baja afinidad por las dihidrofolato reductasa (Malik *et al.*, 2005). Si bien los mecanismos de resistencia a las sulfamidas y trimetoprim no han sido específicamente investigados en caninos y en humanos, los genes que codifican para la dihidrofolato reductasa (*dfr*) A y B han sido identificados (Malik *et al.*, 2005).

**Cuadro 2.** Principales mecanismos de resistencia antibiótica estudiados en *E. coli*. (Mosquito, 2011)

Familia de antibióticos	Mecanismo de acción	Mecanismos de resistencia	Genes implicados
Betalactámicos	Interfiere en las últimas fases de la síntesis del peptidoglicano, componente necesario en la formación de la pared bacteriana	Betalactamasas: enzimas que se caracterizan por hidrolizar el enlace amida del núcleo betalactámico, inactivando de esta manera el antibiótico	Genes que codifican betalactamasas: blaTEM, blaSHV, blaCARB, blaOXA, blaCTX-M y blaGES.
Quinolonas	Inhibe la acción de las topoisomerasas y de la ADN girasa bacterianas	Mutaciones puntuales que generan el cambio de aminoácidos en la enzima blanco del antibiótico  Sistemas de expulsión  Presencia de genes plasmídicos de resistencia antibiótica	Mutaciones a nivel de gyrA (gen que codifica una subunidad de la ADN girasa) y parC (gen que codifica una subunidad de la topoisomerasa IV).  AcrAB-like (sistemas presente en diferentes enterobacterias)  Familia de genes qnr (A, B, C, D S) que codifican proteínas Qnr que impiden estéricamente la unión del antibiótico al blanco.  Gen que codifica la variante cr de la acetiltransferasa 6' (AAC (6')-Ib-cr), capaz de acetilar fluoroquinolonas
Tetraciclinas	Se unen al ribosoma bacteriano, inhibiendo la síntesis de proteínas	Presencia de bombas de eflujo específicas para tetraciclinas	Genes tetA y tetB que codifican sistemas de eflujo
Cloramfenicol	Inhibidor de la biosíntesis de las proteínas, previene la elongación de la cadena de péptidos al unirse al centro de lampeptidiltransferasa del ribosoma 70S	Inactivación enzimática por acetilación  Exportadores específicos de cloramfenicol	Gen cat que codifica a la enzima cloramfenicol acetiltransferasa  Genes floR y cmlA
Trimetoprim-Sulfametoxazol	Inhibe la síntesis de la enzima dihidropteroato sintasa (sulfametoxazol) y de la enzima dihidrofolato reductasa (trimetoprim), las cuales son enzimas necesarias en la ruta del ácido fólico.	Presencia de genes que codifican formas mutantes de la enzima blanco	Genes sul1 y sul2 (sulfametoxazol) y genes dfr (trimetoprim)



## **2.4. Técnicas de detección de resistencia bacteriana**

### **2.4.1. Prueba de difusión por disco (Método de Kirby – Bauer)**

El principio de esta prueba de difusión por disco ha sido usado por más de 70 años en laboratorios de microbiología, hasta que en 1966 se publicó el estudio de la prueba que se realiza en la actualidad. Los pasos básicos de esta prueba han sido adoptados por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2015), según el estudio hecho por Bauer, como referencia de la prueba de difusión por disco (OPS, 2009). La prueba necesita discos de antimicrobianos con una concentración ya determinada. Según los criterios recomendados por (CLSI 2015), el resultado se define de acuerdo a los puntos de corte descritos por la misma institución. Determinando el nivel de resistencia o sensibilidad de acuerdo al tamaño (medido en milímetros) del halo de inhibición que genere el antibiótico (Miles *et al.*, 2006).

### **2.4.2. Métodos de dilución**

Los métodos de dilución permiten conocer la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM). La CIM se define como la mínima cantidad de antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento de un inóculo bacteriano *in vitro*. En cambio, la CBM es aquella que dentro del período de incubación induce la muerte del 99.9% de bacterias del inóculo *in vitro*. (Taroco *et al.*, 2006).

### **2.4.3. Prueba Épsilon (E-test)**

El E-test es una variante sencilla de la técnica de difusión en disco y permite la lectura directa de la CIM. Se emplean placas de agar previamente sembradas con la cepa de estudio, sobre ellas se coloca una tira de plástico de 6 cm de largo y 5 mm de ancho que alberga un gradiente conocido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones, el cual difunde rápidamente sobre el agar. Tras el período de incubación, la zona de inhibición es elipsoidal y simétrica. La CIM se considera como aquella concentración donde la elipse formada se intersecta con la tira (García *et al.*, 2000; Taroco *et al.*, 2006).

## **2.5. Importancia en salud pública**

### **2.5.1. Resistencia de *E. coli* a los antibióticos**

La especie *E. coli* presenta resistencia intrínseca a los antibióticos  $\beta$  lactámicos. Hasta finales de los años 70 su característica era un patrón uniforme de sensibilidad; sin embargo, la utilización masiva de antibióticos ha provocado un aumento en su resistencia a nivel mundial (Turner *et al.*, 2006). En los últimos años, se ha observado un aumento de la resistencia de esta especie a los principales antibióticos de uso clínico para el tratamiento de infecciones causadas por las cepas patógenas de *E. coli* como la ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprim, ciprofloxacina, tetraciclina y estreptomina, tanto en cepas de origen humano y animal como las aisladas del ambiente (agua y suelos) (Alzahrani *et al.*, 2011, Harada y Asai, 2010, Chandran *et al.*, 2008, Schneider *et al.*, 2009).

### **2.5.2. Causas para la emergencia de la resistencia antibiótica**

La rizósfera es la porción del suelo influenciada por el metabolismo de las raíces de las plantas y nicho importante para los microorganismos involucrados en el reciclaje de nutrientes y en la salud de las plantas. Se cree que algunos de los microorganismos de resistencia a antimicrobianos, tienen su origen en un mecanismo de protección por parte de las bacterias, hacia los metabolitos producidos por las bacterias vecinas coexistentes en la rizósfera. Es por eso que se considera al ambiente como una fuente importante para el surgimiento de nuevos genes de resistencia (Gaze *et al.*, 2008).

En la actualidad, la tenencia va a favor de la evolución de la resistencia antibacteriana dentro el ambiente clínico (Gaze *et al.*, 2008). Se considera que el uso indiscriminado de antibacterianos en Medicina Humana, así como en Medicina Veterinaria, asociada a un manejo inadecuado de infecciones y malas prácticas de higiene deriva en la selección y dispersión de cepas bacterianas resistentes. Cabe resaltar que el papel de los antimicrobianos no ha originado a bacterias mutantes resistentes, sino que han constituido una fuerza selectiva que las selecciona y asegura su éxito evolutivo (Collignon, 2003).

En el Perú, el expendio de antibacterianos para el tratamiento de humanos y animales, se da sin prescripción médica (Anón, 2010). Esto resulta en el empleo de antimicrobianos a dosis erróneas, por periodos inadecuados o al empleo de un antimicrobiano incorrecto para el agente etiológico a tratar.

En Medicina Veterinaria, adicionalmente al empleo de antibacterianos para el tratamiento de animales enfermos y profilaxis, los antimicrobianos se utilizan como promotores de crecimiento. Es decir, se emplean antibióticos para modificar cuantitativamente la microbiota intestinal, provocando una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas (Collignon, 2003).

### **2.5.3. Situación actual de resistencia antibiótica en producción animal y uso de promotores de crecimiento**

|

El uso de antibacterianos en producción animal, ha tenido como objetivo principal tratar enfermedades que están comprometiendo la salud de los animales. En segunda instancia, se utilizan para prevenir la aparición de enfermedades; y, en tercer lugar, para ayudar a mejorar la eficiencia nutricional de los animales en la forma de promotores de crecimiento. En la producción ganadera, las dosis profilácticas pueden ir desde subterapéuticos a niveles terapéuticos dependiendo de la enfermedad, fármaco, animal y ambiente. Las granjas de animales que tienen un historial de epidemias recurrentes usualmente se aplican antibacterianos en la alimentación para la prevención y el control de enfermedades (WHO, 2011).

En Medicina Humana la aparición de bacterias resistentes se asocia primordialmente a la constante exposición de estos microorganismos a los distintos antimicrobianos usados en el ámbito hospitalario. No obstante, similares condiciones se presentan en la producción animal, donde además de ser usados para el tratamiento de infecciones, los antimicrobianos son utilizados como promotores de crecimiento (Swartz, 2002).

Algunos antimicrobianos, especialmente los que se usan contra las bacterias gram positivas, se asocian con un aumento de la tasa de crecimiento animal cuando se administran en cantidades subterapéuticas en la alimentación de los animales de consumo humano. El mecanismo de acción de este efecto no está claro. Sin embargo, estos medicamentos también alteran la microbiota intestinal de los animales expuestos de modo que a menudo contienen bacterias resistentes al antibacteriano usado. Cuando los antibacterianos usados como promotores del crecimiento son de una clase similar a la de los fármacos que se usan en medicina humana, las bacterias resistentes de los animales a menudo también son resistentes (resistencia cruzada) a antimicrobianos importantes de uso humano (Cancho *et al*, 2000).

Los promotores de crecimiento se describen como "agentes antibacterianos utilizados con el propósito de aumentar la ganancia de peso diaria o la eficiencia de la alimentación (relación de ganancia de peso de la alimentación) de los animales productores de alimentos " y se

administran a una dosis baja, sub-terapéutica con el objetivo final de mejorar las tasas de crecimiento y reduciendo el consumo de piensos (Shryock *et al*, 2006). Aunque diversos estudios indicaron los beneficios de usar estos promotores de crecimiento para promover el crecimiento, los mecanismos por el cual los antibacterianos promueven el crecimiento fue entonces y sigue siendo poco claro (WHO, 2011).

La diversidad de hipótesis que intentan explicar el mecanismo de acción de los promotores de crecimiento apoya la opinión de que los diferentes mecanismos dominan en diferentes circunstancias o que no sabemos exactamente cómo funcionan. Según la Oficina Nacional Británica de Salud Animal, los promotores de crecimiento ayudan a controlar el número de bacterias indeseables en el intestino y permiten una mejor absorción de nutrientes. Esto significa que los animales se mantienen sanos y crecen más, permitiendo que las granjas produzcan carne más aparentemente más sana a precios consumidores (Friendship *et al*, 2006). Otra perspectiva, por Prescott (2006), plantea la hipótesis de que los antimicrobianos los fármacos mejoran la tasa de crecimiento y la eficiencia de la alimentación a través de un efecto inhibitorio o metabólico en bacterias comensales gram positivas. A pesar de estas hipótesis, los mecanismos exactos por el cual los promotores de crecimiento promueven el crecimiento siguen siendo poco claros.

El empleo indiscriminado de promotores de crecimiento en animales, altera la microbiota intestinal, con la consecuente disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas, así como la reducción de la flora normal que compite con el huésped por los nutrientes (Torres y Zarazoga, 2002). Las dosis subterapéuticas que se administran de estos antimicrobianos ejercen acción selectiva de cepas resistentes, con lo que se puede llegar a altas tasas de prevalencia. (Swartz, 2002). El tratamiento profiláctico con antimicrobianos está asociado a su vez con medidas de bioseguridad deficientes, que permite el flujo constante de patógenos. Además, los establos con malas prácticas de manejo son más proclives a las enfermedades (Casal *et al.*, 2007).

#### **2.5.4. Situación actual de resistencia antibiótica en salud pública**

El uso indiscriminado de los antibióticos tanto en el tratamiento de enfermedades humanas como en veterinaria, ha provocado un aumento del número de bacterias resistentes a los antibacterianos en el medio ambiente. La mayoría de las aguas residuales que contienen antibióticos se vierten a los desagües y van a parar a ambientes acuáticos, lo cual contribuye a la selección de microorganismos con patrones de multirresistencia a antibióticos. Las bacterias

presentes en estos ecosistemas se ven expuestas a diferentes presiones selectivas, lo que favorece el intercambio de genes de resistencia a antibióticos a través de los diferentes vectores de transmisión (plásmidos, transposones y bacteriófagos) (Von Baum y Marre, 2005).

Actualmente se sabe que los elementos genéticos conocidos como integrones tienen la habilidad de capturar grupos de genes del ambiente (agua, suelo) e incorporarlos mediante recombinación en sitios específicos (Miko *et al.*, 2005). En la actualidad los porcentajes de resistencia entre las cepas de esta especie aumentan considerablemente e, incluso, son frecuentes las cepas multirresistentes en los ambientes acuáticos (Ram *et al.*, 2009, Hu *et al.*, 2008).

Por tanto, la determinación y vigilancia de los patrones de resistencia a los diferentes antimicrobianos en cepas aisladas del ambiente, sobre todo, en ecosistemas acuáticos contaminados, permite definir la existencia de cepas multirresistentes que podrían constituir un riesgo para la salud pública. Ante la preocupación en la emergencia de cepas resistentes a antimicrobianos de uso en Medicina Humana, la Unión Europea prohíbe desde hace más de una década el uso antimicrobiano como promotores de crecimiento, debido a la preocupación de la emergencia y selección de bacterias resistentes patógenas a humanos (Vingre *et al.*, 2008).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar y tiempo**

El procesamiento de las cepas de *E. coli* se realizó en el Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos durante los meses de febrero y marzo del año 2015.

#### **3.2. Descripción del material experimental**

- Placas Petri
- Matraz
- Mechero
- Pipetas
- Ansa curva
- Ansa recta
- Viales conteniendo cepa *E. coli*
- Agar Müeller Hinton
- Agar Mc Conkey
- Caldo Trypticase soya
- Tubos de ensayo
- Hisopos esteriles
- Discos antibióticos
- Papel bond
- Papel aluminio
- Autoclave

- Estufa
- Balanza
- Horno microondas
- Regla de Kirby-Bauer

### **3.3. Diseño experimental y observacional**

#### **3.3.1. Obtención de la muestra**

Las 259 muestras se obtuvieron de un centro de beneficio bovino ubicado en la ciudad de Lima, estas fueron enfrentadas a 10 antibacterianos ya evaluados en esta especie.

#### **3.3.2. Tamaño muestral**

El analizaron 259 cepas de *E. coli* aisladas del proceso de beneficio bovino, durante las etapas de desolle, evisceración, oreo inicio, oreo final, utensilios usados durante el proceso y contenido de colon de un camal de Lima Metropolitana. Las cepas se encontraban almacenados en viales a temperatura de refrigeración (4°C). Las muestras fueron aisladas durante los meses de noviembre y diciembre del 2014.

#### **3.3.3. Procesamiento de las muestras**

Se usó el método de discos de difusión en placa conocido como método de Kirby Bauer para la determinación de la resistencia antibacteriana de las cepas, basado en el manual de procedimientos (INS 2002). Los 10 antibióticos utilizados fueron: amikacina (AMK), gentamicina (GEN), estreptomicina (EST), cefalotina (CEF), ciprofloxacina (CIP), sulfametoxazol-trimetropin (SXT), ampicilina (AMP), ácido nalidíxico (AN), cloranfenicol (CLO), tetraciclina (TET).

La lectura del antibiograma se realizó con la regla de Kirby Bauer. La categorización de las cepas se hizo en base al diámetro del área de inhibición alrededor del disco, de esta manera se estableció tres categorías: sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) (CLSI 2015). Los resultados se resumieron en cuadros donde se puede observar la frecuencia según la categorización del halo de inhibición para los antibióticos utilizados en el estudio.

**Cuadro 3.** Tamaño de halo en milímetros para interpretar los resultados del método de difusión en agar (CLSI 2015).

AGENTE ANTIMICROBIANO	POTENCIA	RESISTENTE ≤ (mm)	INTERMEDIO (mm)	SENSIBLE ≥(mm)
Amikacina	30 ug	14	15 - 16	17
Ampicilina	10 ug	13	14 - 16	17
Ácido nalidixico	30 ug	13	14 - 18	19
Cefalotina	30 ug	14	15 - 17	18
Ciprofloxacino	5 ug	15	16 - 20	21
Cloranfenicol	30 ug	12	13 - 17	18
Estreptomicina	50 ug	11	12 - 14	15
Gentamicina	10 ug	12	13 - 14	15
Sulfametoxazol - trimetropim	25 ug	10	11 - 15	16
Tetraciclina	30 ug	11	12 - 14	15

Los antibióticos (discos de sensibilidad) utilizados en los test de susceptibilidad, se encuentran agrupados dentro de las siguientes familias:

- Aminoglucósidos: Amikacina, Gentamicina
- Aminopenicilinas: Ampicilina
- Anfenicoles: Cloranfenicol
- Cefalosporinas: Cefalotina
- Fluoroquinolonas: Ciprofloxacino.
- Quinolona: Acido nalidixico
- Sulfamidas: Sulfametoxazol – trimetropim
- Tetraciclinas: Tetraciclina

#### **a. Enriquecimiento de la muestra**

- Se preparó el Caldo Tripticasa de Soya (TSB) a razón de 30 gr en 1000 ml de agua.
- Se colocó 2 ml de TSB en el tubo de ensayo y se autoclavó.
- Con un ansa se cogió una colonia del vial que contenía *E. coli* e introdujo al tubo y se agitó para luego ser llevado a estufa a 37°C por 6 horas.



#### **b. Preparación del agar**

- Se diluyó en un matraz 38 gr de agar Müeller Hinton en 1000 mililitros de agua, una vez mezclado se tapó con papel aluminio y papel craft para evitar contaminación.
- Se disolvió en microondas por calentamiento
- El medio disuelto se autoclavó por 15 min a 121 °C y 1 atm de presión.
- Una vez frío se estandarizó a pH 7 (neutro)
- Luego se colocó 25 ml de agar en cada placa, dejando solidificar en una superficie horizontal.
- Finalmente se realizó el control de calidad del agar incubando una placa Petri a 37°C durante 24 horas, con el fin de evidenciar el crecimiento de contaminantes.
- Una vez pasado el tiempo fueron almacenadas todas las placas en refrigeración.
- Para su uso fueron previamente colocadas en estufa a 37°C por 5 minutos.

#### **c. Sembrado de la muestra**

- Se tomó un vial, parte de la muestra, que se encontraba en refrigeración, de este se extrajo una ansada del cultivo la cual fue sembrada en un tubo conteniendo caldo TSB el cual fue colocado en estufa a 37°C por 6 horas.
- Pasado el tiempo se retiró de la estufa el caldo TSB.
- Paralelamente se colocaron las placas Petri conteniendo el agar Müeller Hinton en estufa a 37°C por 5 min para proceder a sembrar las muestras.
- Se introdujo un hisopo estéril en el caldo TSB y espero por 5 minutos en la estufa a 37°C, con el fin de que el algodón absorba el caldo que contiene la muestra.
- Se inoculó la superficie del agar Müeller Hinton por hisopado en tres direcciones rotando la placa 60° cada vez (método de difusión en agar conocido como Kirby – Bauer). Como paso final se inoculó la circunferencia de la placa, con ello se aseguró obtener zonas de inhibición uniformemente circulares y desarrollo homogéneo.

#### **d. Aplicación de los discos de antibióticos en las placas inoculadas**

- Se utilizó 2 placas conteniendo el agar Müeller Hinton sobre el agar se colocaron 5 discos en cada una, durante la colocación de los discos se realizó una ligera presión. Los discos estuvieron separados equidistantemente a fin de evitar superposición de las zonas de inhibición. Asimismo, se evitó colocar los discos muy próximos al borde de la placa ya que no se obtendrían zonas de inhibición circularmente completas.

- Finalmente, las placas se incubaron en estufa a 37 °C por 18 – 24 horas, estas fueron colocadas invertidas.

#### **e. Lectura de la muestra**

- Después de 16 horas de incubación se examinó cada placa y se procedió a la medición del diámetro de las zonas de inhibición, el cual incluyo el diámetro del disco en la base de la placa Petri; para la lectura se sostuvo la placa contra un fondo negro e iluminado con luz reflejada luego se coloca la regla de Kirby-Bauer y el valor obtenido se aproximó al valor entero.
- Se interpretó los tamaños de las zonas de inhibición según la tabla del (CLSI 2015) y se definieron como sensible, intermedio o resistente frente al antimicrobiano ensayado.
- Los resultados fueron agrupados y presentados en gráficos.

#### IV. RESULTADOS

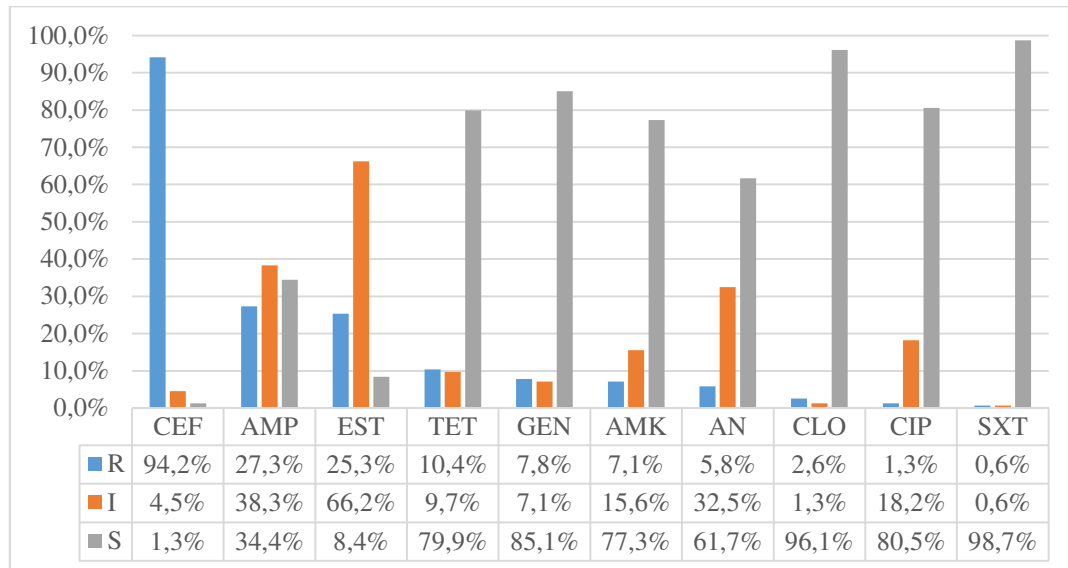
De los 259 viales conteniendo cepas de *E. coli*, el 59.46% (154/259) correspondieron a las carcasas de bovinos (etapas de desolle, evisceración, oreo inicial y final), el 13.51 % (35/259) a muestras de utensilios y el 27.03% (70/259) fueron cepas obtenidas de heces (Cuadro 1).

**Cuadro 4.** Distribución porcentual de cepas *E. coli* aisladas en un camal (n=259).

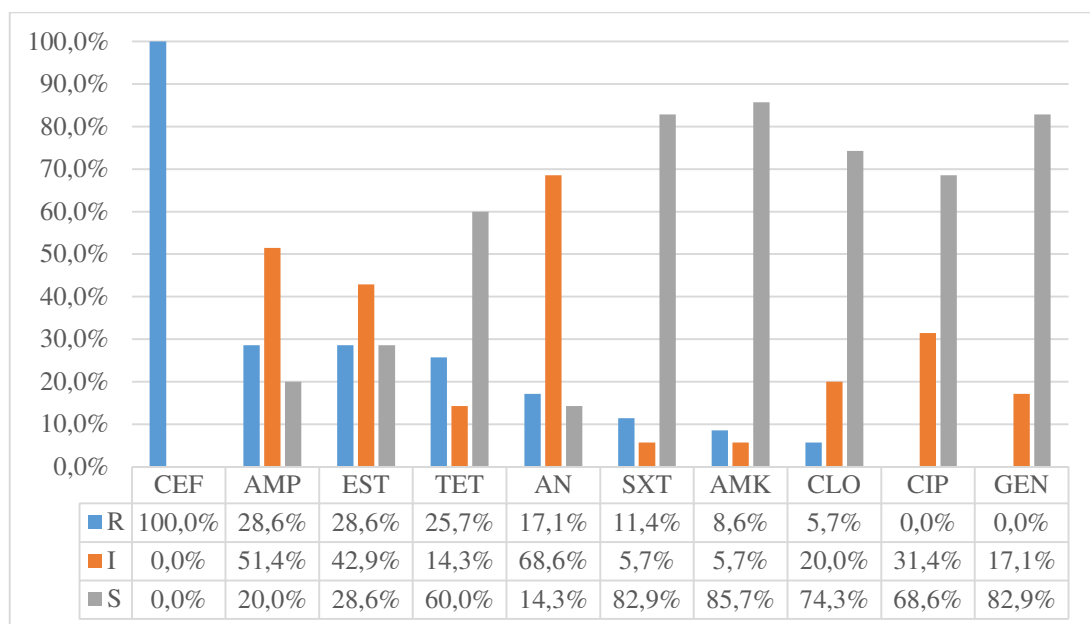
Origen	N° cepas	%
Carcasa	<b>154</b>	59.46
Desolle	36	13.90
Evisceración	49	18.92
Oreo inicial	38	14.67
Oreo final	31	11.97
Utensilios	<b>35</b>	13.51
Heces	<b>70</b>	27.03
Total	259	100%

De los 259 viales evaluados el 94% fue resistente a la cefalotina, en los tres lugares muestreados (carcasa, utensilios y heces) la mayor resistencia fue para la cefalotina (figuras 1, 2 y 3).

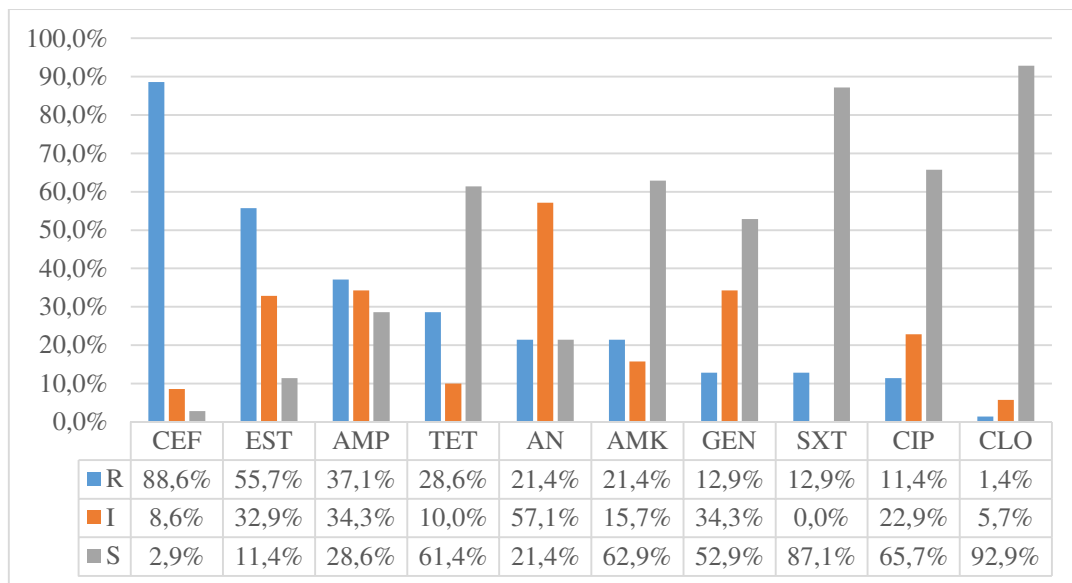
**Figura 1.** Distribución porcentual de la resistencia de cepas *E. coli* frente a 10 antibióticos aislados de la carcasa durante el proceso de beneficio bovino en un camal (n= 154).



**Figura 2.** Distribución porcentual de la resistencia de cepas de *E. coli* frente a 10 antibióticos aislados de utensilios durante el proceso de beneficio bovino en un camal (n= 35).

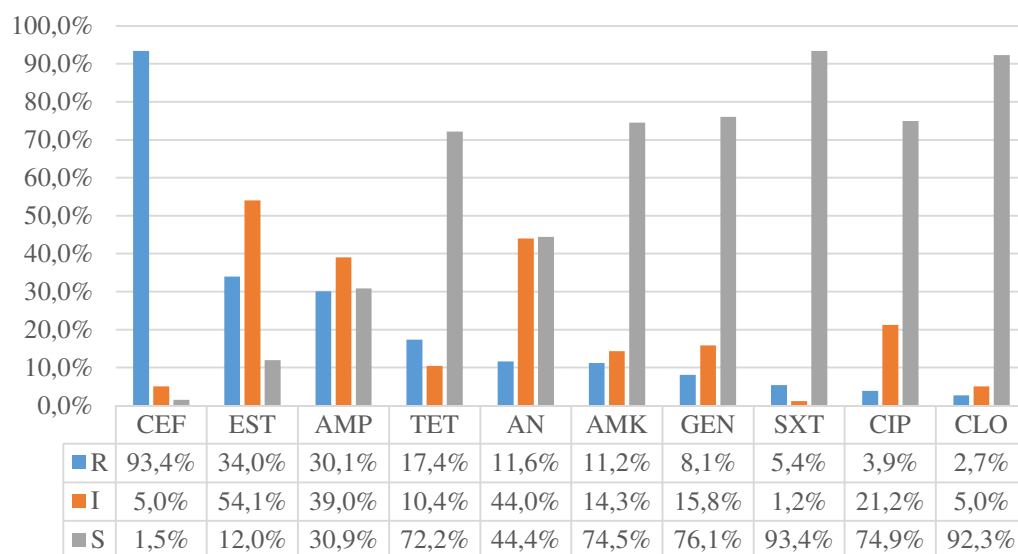


**Figura 3.** Distribución porcentual de la resistencia de cepas de *E. coli* frente a 10 antibióticos aislados de heces durante el proceso de beneficio bovino en un camal (n= 70).



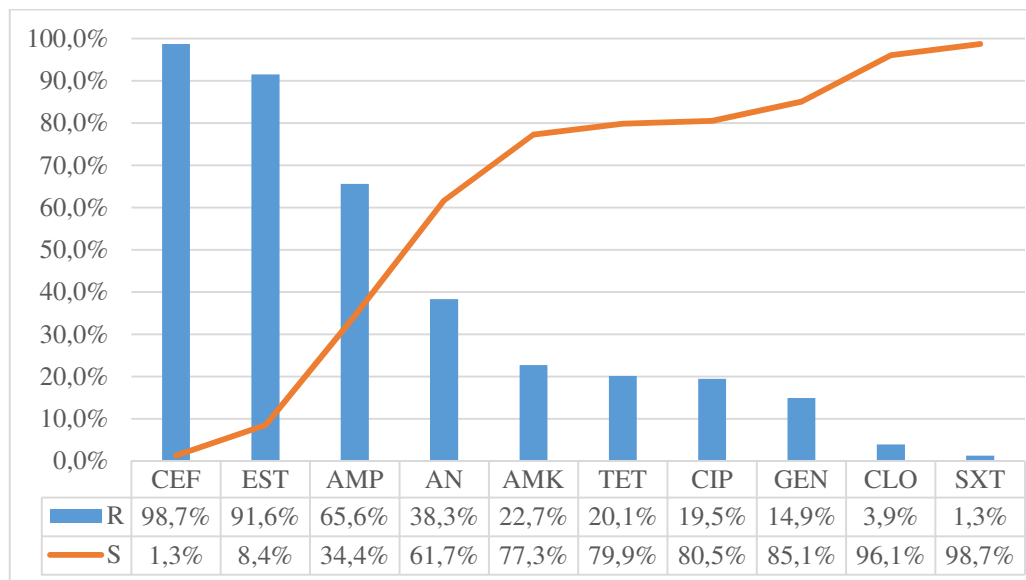
De manera general en la evaluación de todas las cepas obtenidas en el centro de beneficio bovino (N=259), se obtuvo que la cefalotina (93 %) fue el antibiótico con mayor resistencia, seguido por la estreptomicina y ampicilina (34 y 30% respectivamente). Mientras que el cloranfenicol (3%), ciprofloxacino (4%) y el sulfametoxazol-trimetropin (5%) fueron quienes menos resistencia tuvieron frente a las cepas de *E. coli* (Figura 4).

**Figura 4.** Distribución porcentual de la resistencia de cepas de *E. coli* frente a 10 antibióticos en el centro de beneficio bovino (n= 259).

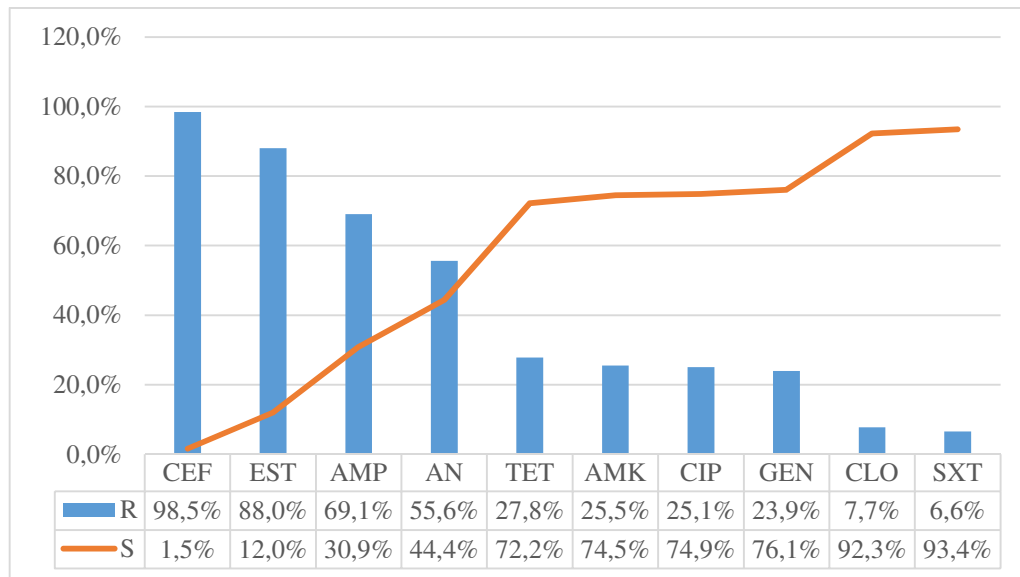


En nuestro estudio también evaluamos en conjunto la resistencia antibiótica total (resistente e intermedia), debido a que con una sensibilidad intermedia potencialmente la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida. Así mismo encontramos que la cefalotina seguía siendo el antibiótico con mayor resistencia, a diferencia del sulfametoxazol-trimetropin y el cloranfenicol quienes fueron menos resistentes (Figura 5 y 6).

**Figura 5.** Distribución porcentual de la resistencia antibiótica total (resistentes e intermedios) de cepas de *E. coli* frente a 10 antibióticos en la evaluación de la carcasa durante el proceso de beneficio bovino en un camal (n= 154).

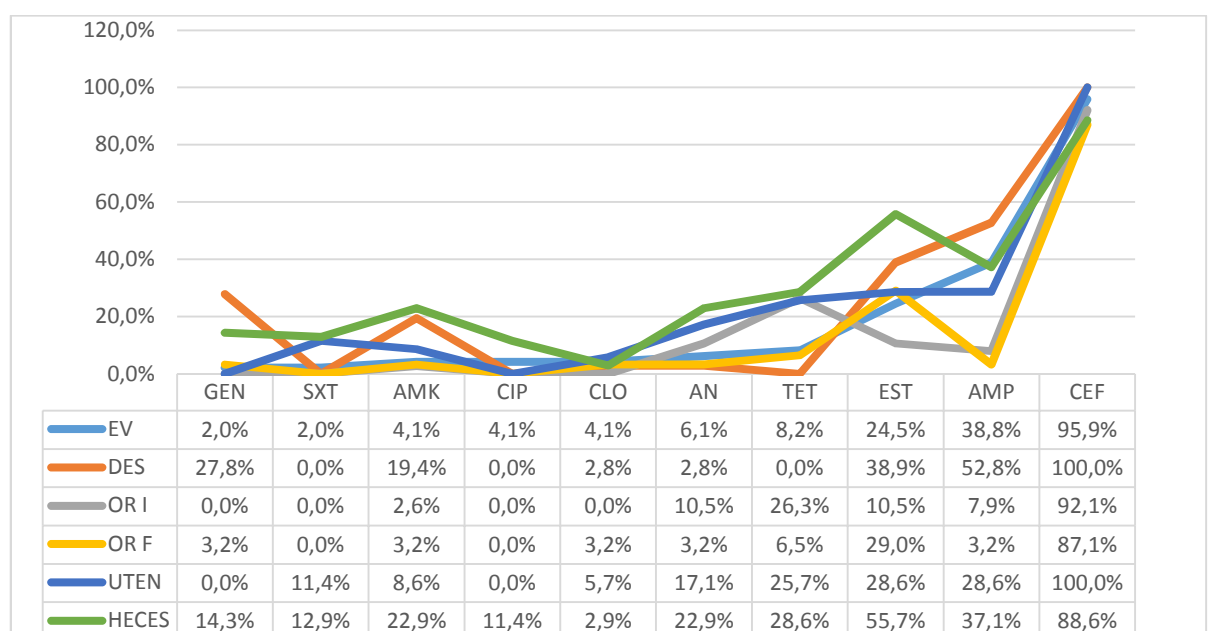


**Figura 6.** Distribución porcentual de la resistencia antibiótica total (resistentes e intermedios) de cepas de *E. coli* frente a 10 antibióticos en la evaluación del centro de beneficio bovino (n=154).



Se observa el comportamiento porcentual de las cepas de *E.coli* frente a los antibióticos en la cual se presenta una curva descendente, presentando la cefalotina una alta resistencia en todas las áreas del centro de beneficio (Figura 7).

**Figura 7.** Distribución porcentual del comportamiento de la resistencia de cepas bacterianas de *E. coli* en el centro de beneficio bovino frente a 10 antibióticos evaluados. (=259)



En el cuadro 5 se puede observar la distribución de las cepas según el número de antibióticos resistentes. Se puede observar que 7 (2.7%) muestras fueron sensibles a los 10 antibióticos usados en el estudio. Asimismo, el 97.3% de las muestras fueron resistentes al menos a un antibiótico.

**Cuadro 5.** Distribución de muestras de cepas de *E. Coli* según el número de antibióticos al cual presentaron resistencia (n = 259).

N° de antibióticos resistentes	N° de cepas resistentes	
	N°	%
0	7	2.7%
1	95	36.7%
2	76	29.3%
3	42	16.2%
4	20	7.7%
5	9	3.5%
6	5	1.9%
7	5	1.9%
8	0	0.0%
9	0	0.0%
10	0	0.0%
	259	100.0%



## V. DISCUSIÓN

La resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos es uno de los graves problemas que enfrenta el sistema de salud. El uso indiscriminado de los antibióticos en el tratamiento de infecciones; así como su empleo en la veterinaria con fines terapéuticos, profilácticos y como promotores del crecimiento ha contribuido al incremento de la resistencia bacteriana, tanto en la clínica como en el ambiente (Hu *et al.*, 2008, Sánchez *et al.*, 2008; Laroche *et al.*, 2009, Ram *et al.*, 2009).

En nuestro estudio encontramos que por lo menos el 97.3 % (252/259) de cepas de *E. coli* aisladas en un Centro de beneficio bovino, son resistentes a por lo menos un antibiótico. Esto podría explicarse debido a la posibilidad de que los animales hayan sido expuestos a dichas cepas bacterianas y que estas han ido adquiriendo resistencia probablemente por exposiciones constantes a antibióticos en niveles sub terapéuticos. Se debe de tener en cuenta que los antibióticos en animales para consumo humano se utilizan como terapéuticos, profilácticos o promotores de crecimiento (INFOSAN, 2008).

En la actualidad la resistencia antimicrobiana se ha incrementado a nivel mundial, habiéndose encontrado por ejemplo *E. coli* resistente a 2, 3 o 4 familias de antibióticos importantes en la clínica humana. Es conocido que existe una relación causa-efecto entre el uso de los agentes antimicrobianos y la aparición de resistencia frente a los mismos (Torres, 2012).

La investigación de la resistencia antibiótica de cepas de *E. coli* provenientes de Centros de beneficio bovino se realizó porque en nuestro país no hay estudios de resistencia en este tipo de muestras, considerando que *E. coli* siempre está presente en el intestino de esta especie. Además, porque la aparición de cepas resistentes a los antimicrobianos en canales pone en riesgo la salud pública humana al poder llegar a los consumidores estas bacterias con el alimento, pudiendo transferir sus genes de resistencia además de sus toxinas al humano, lo que podría conducir a una enfermedad difícil de curar (Reyes-Rodríguez *et al.*, 2013).

En la crianza del ganado bovino se usan antibióticos en problemas entéricos, respiratorios, etc. dentro de ellos tenemos (Artiles *et al.*, 2011): oxitetraciclina, enrofloxacin, cefalosporinas, estreptomicina, penicilinas, sulfamidas y ampicilinas (Moredo *et al.*, 2007); en este trabajo todos estos antibióticos evidenciaron resistencia.

Los antibióticos que obtuvieron mayor resistencia en las cuatro fases de la evaluación de la canal (desolle, evisceración, oreo inicial y final) como en la evaluación de utensilios y heces fueron la cefalotina (93%) seguido por la estreptomicina y ampicilina (34) y (30%) respectivamente. Esto puede deberse a que la resistencia bacteriana a las cefalosporinas se ha ido incrementando en los últimos años debido a su alto valor terapéutico en medicina veterinaria ya que al ser de amplio espectro se utilizan para el tratamiento de una amplia gama de infecciones en animales, siendo necesario tener en cuenta que la sensibilidad de un microorganismo frente a una determinada cefalosporina no implica su sensibilidad a otras, ni siquiera de la misma generación (Botana, 2002).

Actualmente en Medicina Humana se considera que la producción de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) es el principal mecanismo involucrado que confiere resistencia a las cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación. La tasa de producción de BLEE por las enterobacterias en países de Latinoamérica es más alto que en otras regiones del mundo. (Villegas, 2011). En infecciones poco severas, el uso de quinolonas o aminoglucósidos podrían ser indicados si el aislamiento es sensible a alguno de estos antimicrobianos. Sin embargo, las alternativas terapéuticas son limitadas ya que las Enterobacterias productoras de BLEE tienen generalmente mayores niveles de resistencias a las quinolonas y aminoglucósidos. (García *et al.*, 2012). Si bien las BLEEs son inhibidas *in vitro* por los inhibidores de las  $\beta$ -lactamasas como el ácido clavulánico, la combinación de un  $\beta$ -lactámico con un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas no sería de elección para enfermedades serias, ya que la hiperproducción de  $\beta$ -lactamasas y la pérdida de las porinas pueden provocar una reducción en la actividad de los inhibidores de las  $\beta$ -lactamasas y producir falla en el tratamiento (Villegas, 2011).

En México, un estudio realizado en tres centros de beneficio bovino ubicados en el altiplano central Mexicano, evaluó 228 muestras pareadas entre canales y heces, los resultados obtenidos sobre la resistencia de *E. coli* fueron variados; en este estudio se encontró la resistencia a cuatro antibióticos, amikacina (50%), ampicilina (55%), cefalotina (75%) y Gentamicina (50%), estos resultados se le atribuyen al mal manejo de la canal en el proceso de faenado (Reyes-Rodríguez *et al.*, 2013)

En nuestro estudio el cloranfenicol (3%) fue el antibiótico que obtuvo menor resistencia frente a las cepas de *E. coli*, este antibiótico es uno de los más efectivos contra múltiples grupos

bacterianos y tiene propiedades farmacocinéticas que lo harían un antibiótico ideal contra múltiples infecciones, se conoce que su empleo produce toxicidad y carcinogénesis como la anemia aplasia; además de provocar trastornos hematológicos, cardiovasculares y respiratorios. (Vadillo, 2002). Por lo que actualmente en muchos países (específicamente la FDA en Estados Unidos y la UE) está prohibida su utilización en animales productores de carne o de productos destinados a consumo humano, reservándose su uso para unas pocas infecciones concretas en animales de compañía cuando no existen otros antibióticos eficaces (Botana, 2002).

En lo que respecta al ciprofloxacino se encontró una resistencia de 4 %; sin embargo, las cepas con sensibilidad intermedia representan el 21 %, lo que indicaría el aumento de la resistencia a dicho antibiótico. Esto probablemente se debe a la transferencia de resistencia a moléculas del antibiótico entre cepas bacterianas, ya que debido a su alta potencia, amplio espectro y baja toxicidad es actualmente usado en las explotaciones ganaderas (Sumano, 2006).

En Chile un estudio en ganado bovino de leche y carne, aisló e identificó cepas de *E. coli* en las fecas, las cuales presentaban resistencia por encima del 50% tanto para ciprofloxacino y enrofloxacin (San Martín *et al.*, 2005). Otros estudios realizados en animales revelaron que la prevalencia de cepas de *E. coli* resistentes a ciprofloxacino es significativamente alta en pavos y cerdos. La resistencia a quinolonas es de especial interés tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, dado que la situación se agrava aún más al demostrarse que las bacterias son capaces de generar resistencia cruzada con otros antimicrobianos de este grupo, aun cuando no hayan sido utilizados. Esta situación también fue observada en este trabajo, ya que el 99% de las cepas resistentes a enrofloxacin lo fueron también a ciprofloxacino, fármaco de uso exclusivo en medicina humana (Campbell, 1992).

La aparición de cepas resistentes a los antimicrobianos en las canales pone en riesgo la salud humana; la carne de vacuno contaminada con bacterias resistentes a los antimicrobianos al no ser debidamente manipulados y cocinados, podrían transferir sus genes de resistencia además de sus toxinas, lo que podría conducir a una enfermedad difícil de tratar; lo cual se considera como un riesgo alto para la salud pública, y hace necesario evaluar cada una de las etapas del proceso de beneficio para identificar dónde ocurre la contaminación; además de realizar la vigilancia permanente del uso de los antibióticos en la ganadería. (Rodríguez, 2002).

Los antibióticos, así como tienen efectos positivos en lo que respecta al tratamiento de enfermedades, también pueden tener efectos indeseados sobre el microbiota humano y animal. La inhibición de especies y géneros de bacterias susceptibles a dicho antibiótico, implica el sobre crecimiento de otras especies que tienen resistencia natural a este; esto llevara a que se seleccionen bacterias resistentes y que puedan transferir los genes de resistencia mediante plásmidos a

bacterias tanto patógenas como no patógenas, esto conlleva a la eliminación de los metabolitos antibióticos al medio ambiente, tanto agrícola como hídrico, que posteriormente puede convertirse en un nicho ecológico de resistencia (Torres, 2012).

Diversas investigaciones han hallado que existe resistencia cruzada a varios antibióticos de un mismo grupo familiar, esto también fue demostrado por (Arriola, 2011) quien determino por primera vez la presencia de resistencia a los antimicrobianos en la industria porcina y el medio ambiente circundante en el Perú. Dicho estudio encontró que dos aislados de *Enterococcus faecium*, uno procedente de una muestra de cerdo y el otro de un ave silvestre, presentó un gen *vanA* resistente a la vancomicina, que tiene el potencial de transmisión horizontal. Además, el gen *vanA* resistente a la vancomicina tiene el potencial de transferirse a través de la conjugación a otras bacterias gram-positivas de importancia para la salud pública, como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) in vitro e in vivo. Esto último es preocupante ya que la vancomicina es un antimicrobiano glucopéptido y ha sido considerada el fármaco de último recurso para el tratamiento de infecciones resistentes a Gram positivos en seres humanos tales como MRSA.

La FAO en el año 2005 menciona que *Enterococcus faecium*, vancomicina resistente (VRE) es un ejemplo particular ominoso de una bacteria resistente que aparece en los animales y que puede haber “saltado” dentro de los sectores más vulnerables de la población humana. La aparición de VRE en los alimentos puede deberse al uso generalizado de la Avoparcina (el equivalente de la vancomicina, antibiótico humano) en el ganado. Este antibiótico ha sido ampliamente utilizado como un promotor del crecimiento en animales en Europa y otros países, pero nunca en los EE.UU. Los determinantes genéticos que codifican la resistencia para la vancomicina y la avoparcina son idénticos. Se plantea la hipótesis de que el uso de avoparcina en animales de granja selecciona la resistencia a la vancomicina en animales y se asocia con resistencia en humanos. (Arriola, 2011), con los hallazgos encontrados en su investigación sugiere que el análogo veterinario de avoparcina-vancomicina ha sido o puede estar en uso como promotor de crecimiento en el Perú.

## **VI. CONCLUSIONES**

- La cefalotina es el antibiótico con mayor resistencia a la *E. Coli*.
- Los antibióticos con menor resistencia a *E. coli* son el cloranfenicol, ciprofloxacino y el sulfametoxazol-trimetropin.
- Existe un patrón de cepas resistentes y multirresistentes a los antibióticos comúnmente utilizados en producción bovina.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Realizar la serotipificación en próximos estudios y así poder determinar que serovariedad de *E. coli* son resistentes a cada tipo de antibiótico enfrentado.
- Informar y capacitar permanentemente al sector pecuario en la importancia del problema de resistencia antibiótica.
- Realizar estudios de resistencia antibiótica en otras especies de consumo y así tener una mayor visión sobre ésta problemática.
- Implementar un servicio de vigilancia epidemiológica general en las instituciones del sector salud a fin de informar las resistencias a través de los mapas microbiológicos periódicos, el análisis de la calidad de la atención médica y el uso adecuado de antibióticos, los cuales son importantes para el enfrentamiento a esta problemática de salud.

## VIII. BIBLIOGRAFIA CITADA

- **Agurto T. 2009.** Microbiología Bioquímica Bacteriana Enterobacteriaceae. 1ª ed. Perú. Universidad Ricardo Palma. Facultad de Ciencias Biológicas 54, 61, 64: 131-132.
- **Alzahrani AM, Gherbawy YA, Sawant A. 2011.** Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from water springs in Al-Ahsa Region. *African J Microbiol Res* 5 (2): 123-130.
- **Anón 2010.** Intensificaran operarios para evitar venta libre de medicamentos que requieren receta médica. Lima, Perú: Ministerio Nacional de Salud.
- **Artiles E, Arce M, Mendoza C. 2011.** Estudio del comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana en aislados de heces de crías de cerdos en la Unidad Integral I de Palmira. *REDVET. Rev. Electrón. Vet.* 12(3): 1-9. [Internet], [05 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/636/63616934005.pdf>
- **Arriola 2011.** Antimicrobial resistant bacteria and use of antimicrobials in pig farming in Perú. Degree of Doctor of Philosophy Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University 32.
- **Betancor L, Gadea M, Flores K. 2009.** Genética Bacteriana Facultad de Medicina de Uruguay 4: 69-73.
- **Blanco M, Morán F, Pérez C. 2002.** Resistencia bacteriana. Valoración de antibacterianos. En: Manual de microbiología veterinaria. Vadillo S, Piriz S, Mateos E (eds). Ed. Mc Graw – Hill Interamericana. Madrid.
- **Botana L. 2002.** Farmacología y Terapéutica Veterinaria. España. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana 324-342.
- **Campbell BA. 1992.** Penicilinas. Uso de antibióticos en obstetricia y Ginecología. *Med Clin North Am* 3: 427-439.
- **Cancho B, García M, Simal J. 2000.** El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual. *Cienc. Tecnol. Aliment* 3(1): 39-47.
- **Carlet J, Pittet D. 2013.** Access to antibiotics: a safety and equity challenge for the next decade. *Antimicrob Resist Infect Control* 2(1): 1-9.
- **Carlóni G, Pereyra A, Denamiel G, Gentilini E. 2011.** Resistencia a antimicrobianos en aislamientos de *Escherichia coli* de origen animal. In *Vet*, 13(2): 47-51. [Internet], [10 agosto 2016]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S166834982011000200005](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S166834982011000200005)

- **Casal J, Mateu E, Mejia W, Martín M. 2007.** Factors associated with routine mass antimicrobial usage in fattening pig units in a high pig –density área. *Vet Res.* 38: 481-492.
- **Chandran A, Mohamed A, Varguese S, Mony K. 2008.** Prevalence of multiple drug resistant *Escherichia coli* serotypes in a tropical estuary, India. *Microbes Environ* 23 (2): 153-158.
- **Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 25th informational supplement. CLSI M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- **Collignon P. 2003.** A review- the use antibiotics in food producción animals – does this cause problems in human health? *Manipulating pig producción IX*, Fremantle, Western Australia 73-80.
- **Daza R. 2004.** Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Buenos Aires (Argentina). *Inf Ter Sist Nac Salud* 22(3): 57-67.
- **Escolar M, Azanza J, Sádaba B. 1998.** Tetraciclinas cloranfenicol y fosfomicina. *FMH. Navarra (España)* 7 (76): 3524-3532.
- **FAO. 2005.** La necesidad de fortalecer los programas nacionales de monitoreo del uso de los antimicrobianos en Medicina Veterinaria en la región. San José, Costa Rica: Conferencia regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe.
- **Friendship R. 2006.** Antimicrobial Drug use in Swine, in *Antimicrobial Therapy*, S. Giguere, et al., Editors. Blackwell Publishing: Ames 626.
- **García C, Horna G, Linares E, Ramírez R, Tapia R, Velásquez J, Medina V, Guevara J, Urbina M, Espinoza E, Zevallos S, Samalvides F, Jacobs J. 2012.** Resistencia a los medicamentos antimicrobianos en Perú. *Emerg Infect Dis* 18(3): 520-521. DOI: 10.3201/eid1803.100878.
- **García J, Cantón R, Sánchez J, Gómez-Luis M, Martínez M, Rodríguez-Vial C, Vila J. 2000.** Procedimientos de microbiología clínica. Capítulo 11: Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica España.*
- **García S, Calderón B, Martínez W. 2010.** Resistencia antimicrobiana de los principales agentes etiológicos de las infecciones del tracto urinario. *COCMED* 14 (4): 1-11
- **Gaze W, O'Neill C, Wellington E, Hawkey P, 2008.** Antibiotic resistance in the environment, with particular reference to MRSA. *Adv. Appl. Microbiol* 63: 249-280.



- **Giedraitiene A, Vitkauskien A, Naginien R, Pavilonis A. 2011.** Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (kaunas)* 47(3): 137-146.
- **Guerra B. 2000.** Antimicrobial resistance and spread of class 1 - Integrons among *Salmonella* Serotypes. *Antimicrob Agent Chemother* 44(8): 2166-2169.
- **Harada K, Asai T. 2010.** Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food-producing animals in Japan. *J. Biom. Biotech* 18(6): 1-12.
- **Hu J, Shi J, Chang H, Li D, Yang M, Kamagata Y. 2008.** Phenotyping and genotyping of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from a natural river basin. *Environ. Sci. Technol* 42(6): 3415–3420.
- **[INFOSAN] Red Internacional de Autoridades en materia de Inocuidad de los Alimentos. 2008.** Resistencia a los antimicrobianos transferida por animales productores de alimentos. Nota informativa 2. [Internet], [30 octubre 2016]. Disponible en: [http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_02\\_Antimicrobial\\_Mar08\\_ES.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_02_Antimicrobial_Mar08_ES.pdf)
- **INS. 2002.** Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión: Lima, Serie de normas técnicas 30: 14-19.
- **Kaper. 2005.** Antibióticos B- lactámicos. *Farmacología Humana*. 4<sup>a</sup> ed, Barcelona: Masson 1105-1128.
- **Kirby W, Bauer A. 1966.** Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45: 493-496.
- **Laroche E, Pawlak B, Berthe T, Skurnik D, Petit F. 2009.** Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli* isolated from a densely populated estuary (Seine, France). *FEMS Microbiol Ecol.* 68(5): 118–130.
- **Lewin B. 2000.** Genes VII. Nueva York. Ed. Reverte, 7 Ed. Oxford University Inc.
- **Malik S, Peng H, Barton M. 2005.** A review: Antibiotic resistance in *Staphylococcus sp.* associated with cats and dogs. *J Appl Microbiol* 99: 1283-1293.
- **Marin M, Gudiol F. 2003.** Beta-Lactam antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 21: 42-55.
- **Mandell G, Bennett J. 2005.** Principles and practice of infectious diseases. 2: 2567-2586.
- **Miko ML, Littlefield-Wyer J, Gordon DM, Veal DA, Slade MB. 2005.** Phenotypic and genotypic characterization of encapsulated *Escherichia coli* isolated from blooms in two Australian lakes. *Environ. Microbiol* 7: 631–640.
- **Miles T, Mc Laughlin W, Brown P. 2006.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from broiler chickens and humans. *BMC Veterinary Research* 2: 7-9.

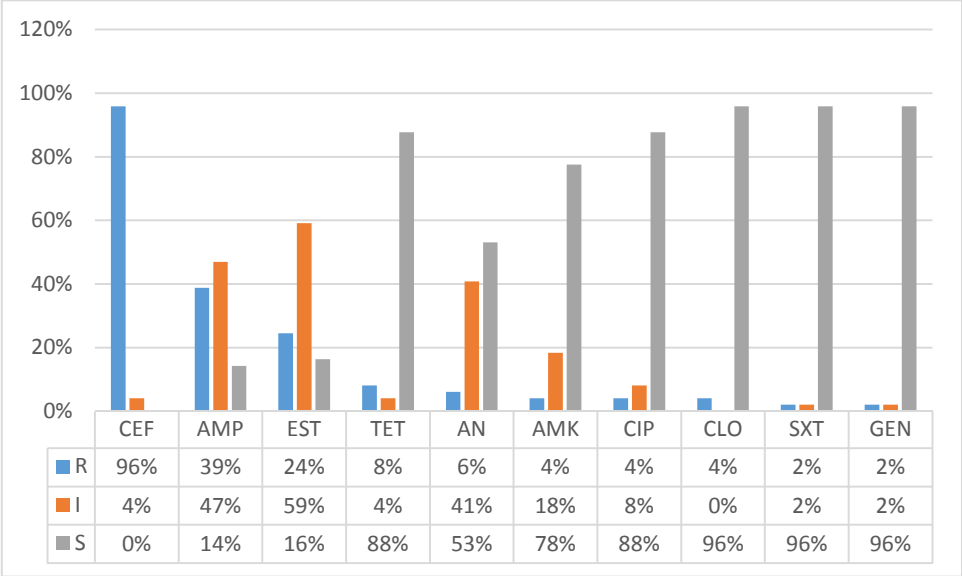
- **Murray PR, Rosenthal KS, Pflaller MA. 2006.** Microbiología Medica 5<sup>ta</sup> ed. España: Elsevier 326-328.
- **Nijsten R, London N, Van Den Bogaard A, Stobberingh E. 1994.** Resistance in faecal *Escherichia coli* isolated from pigfarmers and abattoir workers. Epidemiol Infect 113: 45-52. [Internet], [24 setiembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2271230/>
- **[OPS] Organización Panamericana de la Salud. 2009.** Manual de pruebas de Susceptibilidad antimicrobiana 248-249.
- **Pérez H, Robles A. 2013.** Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Revista Médica 186-191.
- **Plumb D. 2006.** Manual de farmacología veterinaria. Sexta Edición. España. Editorial intermédica.
- **Prescott JF. 2006.** History of Antimicrobial Usage in Agriculture: an Overview, in Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin, F.M. Aarestrup, Editor. ASM Press: Washington DC 422-423.
- **Quinn PJ. 2002.** Veterinary microbiology and microbial disease. Oxford; Maiden, MA: Blackwell Science 8: 536-537.
- **Ram S, Vajpajee P, Singh R, Shanker R. 2009.** Surface water of a perennial river exhibits multiantimicrobial resistant shiga toxin and enterotoxin producing *Escherichia coli*. Ecotox Environ Safe 72(9): 490-95.
- **Reyes-Rodríguez M, Talavera-Rojasa J, Varela-Guerrero J, Barba-León A, Gutiérrez-Castillo A. 2013.** Prevalencia y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* O157:H7 aislada de canales de bovinos sacrificados en rastros del altiplano central Mexicano. Rev. Mex. de cienc pecuarias 4(2): 235-242. [Internet], [20 setiembre 2016]. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S200711242013000200009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200711242013000200009)
- **Rodríguez G. 2002.** Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública Mex 44: 464-476. [Internet], [12 julio 2016]. Disponible en: [https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S003636342002000500011&script=sci\\_arttext&tlng=es](https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S003636342002000500011&script=sci_arttext&tlng=es)
- **San Martín B, Bravo V, Borie C. 2005.** Evaluación de la resistencia antimicrobiana en ganado bovino en Chile, utilizando *Escherichia coli* como bacteria indicadora. Arch Med Vet. 37(2): 20-26. [Internet], [07 julio 2016]. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2005000200005](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2005000200005)

- **Sánchez J, Serrano S, Marfil R, Jodral M. 2009.** Patógenos emergentes en la línea de sacrificio porcino. España: Diaz de Santos 81-89.
- **Scheutz F, Strockbine N, Genus I. 2005.** *Escherichia coli*. In: Brenner, D.J., et al. (Eds.) The Proteobacteria Part B the Gamma proteobacteria. Springer 2(2): 607-623.
- **Shryock TR, Page SW. 2006.** Growth promotion uses of antimicrobial agents, in antimicrobial therapy in Veterinary Medicine, S. Giguere, et al., Editors. Blackbell Publishing Ames, Iowa 626-627.
- **Souza V, Castillo A, Rocha M, Sandner L, Silva C, Eguiarte L. 2001.** Ecología evolutiva de *Escherichia coli*. INCI 26(10): 1-14. [Internet], [22 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.re-dalyc.org/articulo.oa?id=33906116>
- **Sumano H. 2006.** Farmacología Veterinaria. 3era Edición. México. Editorial Mc. Graw Hill.
- **Swartz MN. 2002.** Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin. Clin. Infect. Dis 34 (3): 111-122.
- **Taroco R, Seija V, Vignoli R. 2006.** Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Libro: Temas de Bacteriología y Virología. Ed Oficina del libro FEFMUR. Instituto de Higiene, Montevideo. Uruguay 36: 633-671.
- **Torres C, Zarazoga M. 2002.** Antibióticos como promotores de crecimiento en animales. Gac Sanit 16: 109-112. doi: 10.1016/S0213-9111(02)71640-3
- **Torres C. 2012.** La Resistencia Bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming. Academia de Farmacia, Zaragoza-España 47-48. [Internet], [09 junio 2016]. Disponible en: <http://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento48.pdf>
- **Vadillo S, Piriz S, Mateos E. 2002.** Manual de Microbiología Veterinaria. McGraw Hill Interamericana de España, S.A.U. Madrid.
- **Vingre H, Larsen P, Andreasen M, Christensen J, y Jorsal S. 2008.** The effect of discontinued use of antimicrobial growth promoters on the risk of therapeutic antibiotic treatment in Danish farrow - to - finish pigs farms Epidemiol. Infect. 136: 92-107.
- **Villegas MV, Blanco MG, Sifuentes-Osornio J, Rossi F. 2011.** Increasing prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase among Gram-negative bacilli in Latin America--2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends. Braz J Infect Dis 15: 34-35. doi: 10.1016/S1413-8670(11)70137-4
- **Von Baum H, Marre R. 2005.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. Int. J. Med. Microbiol. 295 (7): 503– 511.

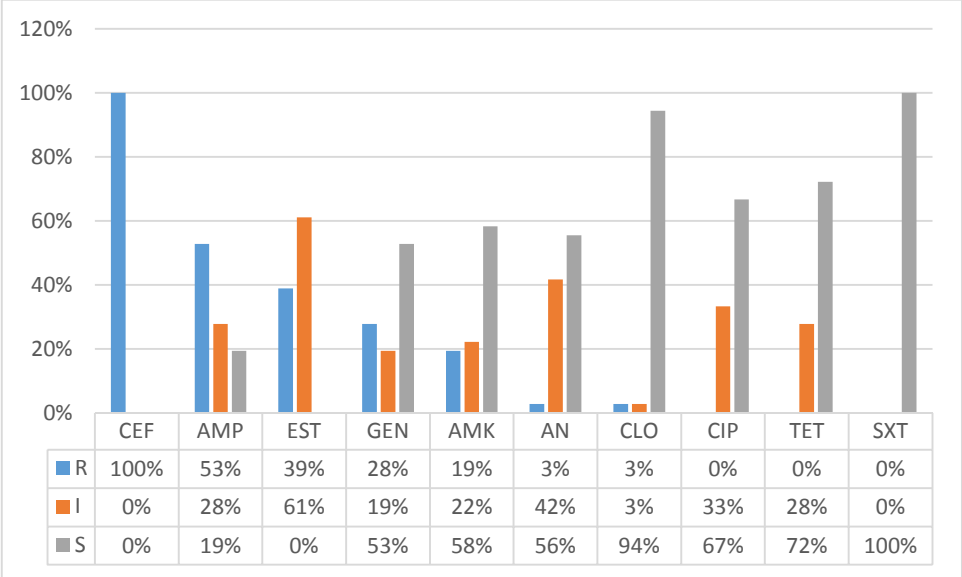
- ***World Health Organization. 2011.*** Monitoring antimicrobial usage in food animals for the protection of human health, WHO, Editor, WHO: Oslo, Norway.

IX. ANEXOS

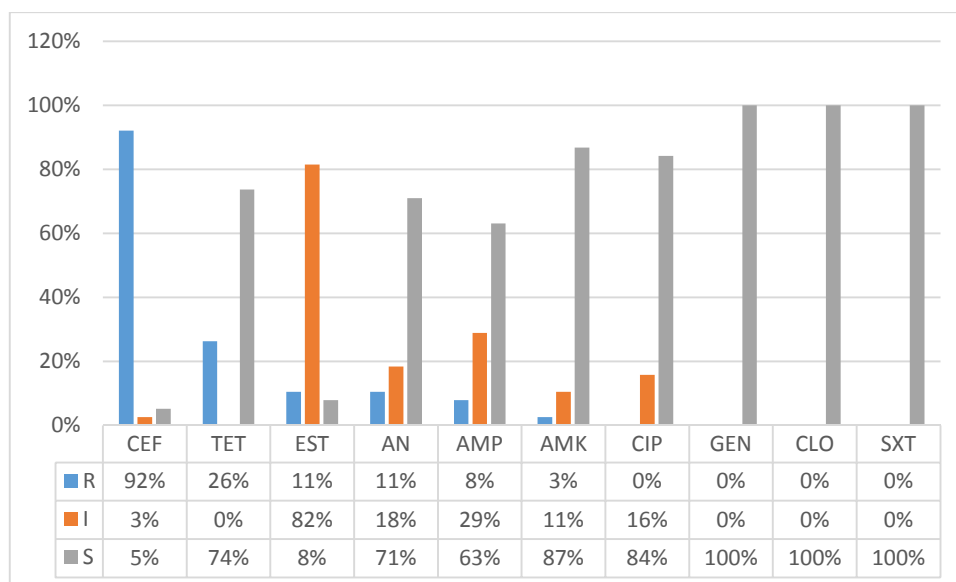
**Anexo 1.** Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de *E. coli* frente a 10 antibióticos en la fase de evisceración durante el proceso de beneficio bovino (n= 49).



**Anexo 2.** Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de *E. coli* frente a 10 antibióticos en la fase de desolle durante el proceso de beneficio bovino (n= 36).



**Anexo 3.** Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de *E. coli* frente a 10 antibióticos en la fase de oreo inicial durante del proceso de beneficio bovino (n= 38).



**Anexo 4.** Distribución porcentual de la resistencia antibiótica de cepas bacterianas de *E. coli* frente a 10 antibióticos en la fase de oreo final del proceso de beneficio bovino (n= 31).

